

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO VEGETAL

GRACIELME SOARES DA SILVA

**CONTROLE DE *PERONOSPORA DESTRUCTOR* EM *ALLIUM FISTULOSUM* L. COM FERTILIZANTE
FOLIAR À BASE DE COBRE**

MONTES CLAROS

2023

GRACIELME SOARES DA SILVA

**CONTROLE DE *PERONOSPORA DESTRUCTOR* EM *ALLIUM FISTULOSUM* L. COM
FERTILIZANTE FOLIAR À BASE DE COBRE**

Versão final

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Produção Vegetal da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

Área de Concentração: Produção Vegetal

Orientador: Fernando da Silva Rocha

Coorientador: Cândido Alves da Costa

MONTES CLAROS

2023

Silva, Gracieme Soares.

S586c Controle de *Peronospora destructor* em *Allium fistulosum* L. com fertilizante
2023 foliar a base de cobre [manuscrito]/ Gracieme Soares da Silva. Montes Claros, 2023.
52f.: il.

Dissertação (mestrado) - Área de concentração em Produção Vegetal. Universidade
Federal de Minas Gerais / Instituto de Ciências Agrárias.

Orientador: Fernando da Silva Rocha
Banca examinadora: Fernando da Silva Rocha, Edson Hiydu Mizobutsi, Márcia
Martins.

Inclui referências: f.22-25; 48-51.

1. Cebolinha -- Teses. 2. Adubos e fertilizantes -- Teses. 3. Produtos químicos
agrícolas -- Teses. 4. Pragas agrícolas -- Controle -- Teses. I. Rocha, Fernando da
Silva. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Agrárias. III.
Titulo.

CDU: 632.9



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Instituto de Ciências Agrárias
Mestrado em Produção Vegetal

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

Aos 17 dias do mês de fevereiro do ano de dois mil e vinte e três, às 13:30 horas, sob a Presidência do Professor Fernando da Silva Rocha, D. Sc. (Orientador – UFMG/ICA) e com a participação dos Professores Edson Hiydu Mizobutsi, D. Sc. (Unimontes) e Márcia Martins, D. Sc. (UFMG/ICA), reuniu-se, por videoconferência, a Banca de Defesa de Dissertação de GRACIELME SOARES DA SILVA, aluna do Curso de Mestrado em Produção Vegetal. Após avaliação da defesa de Dissertação da referida aluna, a Banca Examinadora procedeu à publicação do resultado da defesa de Dissertação intitulada: "Controle de *Peronospora destructor* em *Allium fistulosum* L. com fertilizante foliar a base de cobre", sendo a aluna considerada Aprovada. E, para constar, eu, Professor Fernando da Silva Rocha, Presidente da Banca, lavrei a presente ata que depois de lida e aprovada, será assinada por mim e pelos demais membros da Banca examinadora.

OBS.: A aluna somente receberá o título após cumprir as exigências do ARTIGO 65 do regulamento do Curso de Mestrado em Produção Vegetal, conforme apresentado a seguir:

Art. 65 Para dar andamento ao processo de efetivação do grau obtido, o candidato deverá, após a aprovação de sua Dissertação ou Tese e da realização das modificações propostas pela banca examinadora, se houver, encaminhar à secretaria do Colegiado do Programa, com a anuência do orientador, 1 (um) exemplar impresso e 1 (um) exemplar eletrônico da dissertação ou, tese, no prazo de 60 (sessenta) dias.

Montes Claros, 17 de fevereiro de 2023

Fernando da Silva Rocha
Orientador

Edson Hiydu Mizobutsi
Membro

Márcia Martins
Membro

Assinatura dos membros da banca examinadora:



Documento assinado eletronicamente por Edson Hiydu Mbaoburba, Usuário Externo, em 17/02/2023, às 16:26, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por Fernando da Silva Rocha, Professor do Magistério Superior, em 17/02/2023, às 16:27, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por Marcia Martins, Membro, em 17/02/2023, às 16:28, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufma.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_documento_externo=0, informando o código verificador 2087716 e o código CRC BAA8CA7.

Dedico aos meus pais, Gasparina e Jovânio; às minhas irmãs, Joyce e Géssica; ao meu irmão, Joelb; ao meu marido, Max; e aos demais familiares, todos fundamentais para esta conquista, pelo amor e pela compreensão nesta jornada.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por iluminar minha vida, dando-me sabedoria para realizar este trabalho, e por todas as bênçãos derramadas nos momentos difíceis desta jornada.

Agradeço aos meus pais, Gasparina e Jovânio, às minhas irmãs, Joyce e Géssica, ao meu irmão, Joelb, pelo carinho, incentivo e apoio, pela amizade, força, confiança e orações dedicadas aos meus estudos e a mim, e por estarem sempre ao meu lado.

Agradeço ao meu esposo, Max, pelo amor, companheirismo e pela paciência, sempre me dando força para lutar pelos meus estudos, o que me ajudou a passar por muitos e muitos obstáculos durante esse tempo de estudos e a não desistir.

Agradeço ao meu orientador, Prof. Fernando da Silva Rocha, pela paciência, amizade, compreensão e pelas orientações durante todo o mestrado. Agradeço ao meu coorientador, Prof. Cândido Alves da Costa, por todo apoio, e ao Prof. Evander Ferreira, pela força e suporte na execução do trabalho em campo.

Agradeço às minhas amigas, Érica, Nicole, Aline, Fátima, Nanda, pelo carinho e pela amizade.

Agradeço aos meus colegas do Grupo de Estudos em Fitopatologia-GEFIT, do Laboratório de Fitopatologia, especialmente à Fátima, pela amizade e ajuda durante as realizações dos meus trabalhos, e à Maryelle e à Cristiane, pelo auxílio na execução do trabalho em campo.

Agradeço aos professores, funcionários e ao Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal do Instituto de Ciências Agrárias da UFMG.

Agradeço ao produtor rural Wevilton Feitosa, que disponibilizou a área onde foi desenvolvido o experimento de campo.

Agradeço à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pelo apoio financeiro.

Agradeço à empresa *Alltech Crop Science*, pelo apoio financeiro na pesquisa enquanto não bolsista e por ceder o produto utilizado para o experimento neste estudo.

Agradeço a todos que não foram aqui citados, mas contribuíram direta ou indiretamente para este trabalho.

Muito obrigada!

RESUMO

A cebolinha (*Allium fistulosum* L.) é originária da Sibéria, pertence à família das Aliáceas e possui grande importância econômica para os pequenos produtores. O míldio é uma doença fúngica que limita a produção de cebolinha devido a sua agressividade e também por haver poucos fungicidas recomendados para seu controle. Desta forma, objetivou-se avaliar o controle *in vivo* e *in vitro* do agente causal do míldio da cebolinha com o fertilizante foliar Copper Crop®(CC), bem como o desenvolvimento e a produção da cebolinha. O experimento *in vivo* foi realizado em campo, na região do Planalto Rural, em Montes Claros-MG. Os tratamentos foram quatro diferentes concentrações de 0,125, 0,25, 0,50 e 0,75 mL.L⁻¹ do CC. Plantas pulverizadas com o fungicida Supera® (hidróxido de cobre 53,74%), na concentração de 5 mL.L⁻¹ ou sem aplicação de produto, foram consideradas como testemunhas. Esses produtos foram aplicados no intervalo de 3 em 3 dias. Utilizou-se neste experimento o DBC, com quatro repetições. Para as avaliações, foram feitos o isolamento e a identificação morfológica e molecular do fungo. Foram feitas seis avaliações em campo, de oito em oito dias, durante quarenta dias. Foram avaliadas a incidência e a severidade da doença e o desenvolvimento vegetativo, como número de folhas por planta e comprimento médio das folhas das plantas. Após os quarenta dias de avaliação, avaliou-se a produção final como número de maços/m²; produção de massa fresca e seca total de folhas/m²; produção comercial/m²; análise de cobre e nitrogênio das folhas. Os experimentos *in vitro* foram desenvolvidos no Laboratório de Pesquisa em Fitopatologia da Universidade Federal de Minas Gerais, *Campus* Montes Claros, para avaliar a inibição do crescimento micelial fúngico. No primeiro experimento, foram estudados o fertilizante CC nas concentrações de 0,125, 0,25, 0,50 e 0,75 mL.L⁻¹ e o hidróxido de cobre a 5 mL.L⁻¹. Já no segundo experimento, foi avaliado o fertilizante CC nas concentrações 1,0, 5,0, 10,0, 13,0 e 15,0 mL.L⁻¹, para comparação da testemunha sem controle e com o hidróxido de cobre. O isolado de *Peronospora destructor* foi cultivado em meio BDA. Em seguida, discos de 4 mm de diâmetro do meio de cultura contendo micélio fúngico foram retirados e colocados no centro das placas de Petri, com as diferentes concentrações. As placas foram acondicionadas em temperatura ambiente, por um período de 16 dias, quando obteve-se o crescimento micelial até atingir as bordas das placas da testemunha. Utilizou-se o DIC, com 5 repetições. O agente causal do míldio na cebolinha foi identificado pelas características morfológicas típicas e confirmado pela análise filogenéticas com 100% de similaridade como sendo *P. destructor*. O fungicida reduziu a incidência e a severidade em 40 e 45%, respectivamente. Já o produto CC reduziu apenas a severidade em 45% na maior concentração (0,75 mL.L⁻¹) estudada. Para o desenvolvimento vegetativo e produtivo, observou-se que houve maior desenvolvimento da parte aérea com aumento de 40% e 45% do CC e fungicida, respectivamente. No estudo químico *in vitro*, o fungicida obteve redução de 100% do micélio fúngico, enquanto que com o fertilizante CC, foi observado que com o aumento das concentrações ocorreu uma redução do crescimento micelial, atingindo 100% de controle a partir da concentração 5,0 mL.L⁻¹.

Palavras-Chaves: Cebolinha. Míldio. Fertilizante foliar. Controle.

ABSTRACT

Bunching onion (*Allium fistulosum* L.) is originated from Siberia, belong to the Alliaceae family and have great economic importance for small producers. Downy mildew is a fungal disease that limits Bunching onion production due to its aggressiveness and also because there are few fungicides recommended for its control. Thus, the objective was to evaluate the *in vivo* and *in vitro* control of the causal agent of downy mildew of Bunching onion with the foliar fertilizer Copper Crop[®](CC), as well as the development and production of the Bunching onion. The *in vivo* experiment was carried out in field, in the Planalto Rural region, in Montes Claros-MG. The treatments were four different concentrations of 0.125, 0.25, 0.50 and 0.75 mL.L⁻¹ of the CC. Plants sprayed with Supera[®] fungicide (copper hydroxide 53.74%), at a concentration of 5 mL.L⁻¹ or without product application, were considered as controls. These products were applied at intervals of every 3 days. It was used the DBC in this experiment, with four replications. For the evaluations were performed isolation and morphological and molecular identification of the fungus. They were carried out six evaluations in field, every eight days, for forty days. They were evaluated the incidence and severity of the disease and the vegetative development, such as the number of leaves per plant and the average length of the leaves of the plants. After the forty days of evaluation, it was evaluated the final production as number of packs/m²; production of total fresh and dry mass of leaves/m²; commercial production/m²; copper and nitrogen analysis of leaves. The *in vitro* experiments were carried out at the Phytopathology Research Laboratory of the Federal University of Minas Gerais, Campus Montes Claros, to evaluate the inhibition of fungal mycelial growth. In the first experiment were studied CC fertilizer at concentrations of 0.125, 0.25, 0.50 and 0.75 mL.L⁻¹ and copper hydroxide at 5 mL.L⁻¹. Already in the second experiment was evaluated the CC fertilizer at concentrations 1.0, 5.0, 10.0, 13.0 and 15.0 mL.L⁻¹, for comparison with the control without control and with copper hydroxide. The *Peronospora destructor* isolate was grown on PDA medium. Then, 4 mm diameter discs of the culture medium containing fungal mycelium were removed and placed in the center of Petri dishes, with different concentrations. The dishes were conditioned at room temperature for a period of 16 days, when it was obtained mycelial growth until reaching the edges of the control dishes. It was used DIC, with 5 replications. The causal agent of downy mildew in Bunching onion was identified by typical morphological characteristics and confirmed by phylogenetic analysis with 100% similarity as being *P. destructor*. The fungicide showed incidence and severity in 40 and 45%, respectively. Only the CC product reduced the severity by 45% at the highest concentration (0.75 mL.L⁻¹) studied. For the vegetative and productive development was observed that there was a greater development of the aerial part with an increase of 40% and 45% of the CC and fungicide, respectively. In the *in vitro* chemical study, the fungicide obtained a 100% reduction in fungal mycelium, while the CC fertilizer was observed that with increasing concentrations there was a reduction in mycelial growth, reaching 100% control from concentration 5.0 mL.L⁻¹.

Keywords: Bunching onion. Downy mildew. foliar fertilizer. Control.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Esporangióforos e esporângios de *Peronospora destructor* em microscópio óptico (A, C) e em MEV (B, D). Sintomas típicos observados em cebolinha com amarelecimento das folhas velhas (E), micélio de cor cinza em folhas (F) e esporangióforos e esporangios. **Error! Bookmark not defined.**

Figura 2: Árvore filogenética demonstrando as relações evolutivas entre as sequências do gene ITS do isolado 16208 e sequências de isolados relacionados presentes na base de dados de nucleotídeos – GenBank, utilizando 1000 repetições.37

Figura 3: Incidência (A) e severidade (B) de *P. destructor* em cebolinha sem aplicação de produto (*non-controlled*) ou com aplicação do fungicida hidróxido de cobre (5 mL.L⁻¹) ou fertilizante foliar CC em diferentes concentrações (0,125, 0,25, 0,50 e 0,75).....38

Figura 4: Controle *in vitro* experimento 1 (A) e experimento 2 (B) - ação do fungicida hidróxido de cobre (testemunha) e de diferentes concentrações de CC na inibição do crescimento micelial de *P. destructor* da cebolinha.42

Figura 5: Média mensal da temperatura e da umidade relativa do ar na região durante o experimento *in vivo*.52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Valores médios de número de folhas por planta (N.º FP), comprimento médio das folhas (CMF) cm, número de maçãs/m² (N.º M/m²), produção de massa fresca (MF) e seca (MS) total de folhas/m², produção comercial/m² (PC/m²), cobre (Cu) e nitrogênio (N)**Error! Bookmark not defined.**

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BDA	Batata Dextrose Agar
CC	Cooper Crop
cm	Centímetro
cmol	Centimol de carga
CO ₂	Gás Carbônico
Cu	Cobre
Dag/Kg	Decagrama/quilograma
g/L	Gramas/litro
h	Horas
ha	Hectare
ICP-OES	Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry
INMET	Instituto Nacional de Meteorologia
ITS	Internal transcribed spacer
Kg	Quilograma
Km	Quilômetro
m	Metro
MF	Massa fresca
mL.L ⁻¹	Mililitros / litros
mm	Milímetro
MS	Massa seca
N	Nitrogênio
NCBI	National Center for Biotechnology Information
PCR	Polymerase Chain Reaction
pH	Potencial hidrogeniônico
µg/ml	Micrograma por mililitro

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS	14
Objetivo Geral	14
Objetivos Específicos	14
3 REVISÃO DE LITERATURA	15
3.1 Aspectos gerais da cebolinha	15
3.2 Fatores bióticos e abióticos que causam danos à cebola e à cebolinha.....	16
3.3 Míldio na cebola e na cebolinha.....	17
3.4 Medidas de controle do míldio na cebola, no alho e na cebolinha.....	18
3.5 Fertilizante foliar, cobre e fungicida no controle de fungos.....	19
REFERÊNCIAS	22
4 ARTIGO	26
Artigo – Controle de <i>Peronospora destructor</i> em cebolinha com fertilizante foliar à base de cobre	26

1 INTRODUÇÃO

O cinturão verde de Montes Claros - MG está localizado na região do planalto rural, a aproximadamente 25 km ao sul da cidade. Na Associação dos Produtores do Planalto Rural existem, aproximadamente, duzentos agricultores familiares que têm como renda a comercialização de hortifrutigranjeiros, que abastecem comércios como a Central de Abastecimento do Norte de Minas (Ceanorte) e supermercados locais de Montes Claros-MG. Dentre esses produtos, inclui-se a cebolinha, muito utilizada pelos consumidores. É uma das principais hortaliças cultivadas, sendo bastante utilizada na culinária brasileira (SANTANA *et al.*, 2016; CARVALHO *et al.*, 2019).

A comercialização da produção de cebolinha gera renda para os agricultores e contribui para a promoção da segurança alimentar e nutricional de suas famílias. Sendo assim, a redução de sua produtividade pode reduzir a renda familiar desses agricultores. Infere-se que na região do planalto rural, no município de Montes Claros, a redução da produtividade está diretamente relacionada a problemas fitossanitários. É o caso, por exemplo, segundo ANKITA *et al.* (2020), do cultivo de cebolinha e a incidência de míldio em épocas de temperaturas amenas (inferiores a 22°C) e de alta umidade do ar. O míldio é uma doença fúngica bastante agressiva e com poucos fungicidas de uso autorizado para seu controle. Além disso, a maioria dos agricultores da referida região busca eliminar o uso de agrotóxicos em seus cultivos, pois visam à certificação orgânica da produção de todo o cinturão verde de Montes Claros.

Nesse contexto, o presente estudo buscou o controle do míldio na cebolinha, com o uso do fertilizante foliar o CopperCrop® à base de cobre a 10%. Em sistema de produção orgânica, o uso de produtos à base de cobre é permitido até 70 mg kg⁻¹, segundo Brasil (2021) para o controle de doenças, fato que pode tornar o CC muito importante no manejo do míldio na produção da cebolinha, pois, além de fornecer cobre, disponibiliza nutrientes para o desenvolvimento da cultura. Como a cebolinha possui ciclo curto e seu consumo também pode ser *in natura*, buscam-se medidas de manejo mais adequado para o controle do míldio, a fim de evitar contaminação do meio ambiente, dos trabalhadores, do produto final e, conseqüentemente, dos consumidores.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar o controle *in vivo* e *in vitro* do agente causal do míldio da cebolinha com o fertilizante foliar CC, bem como o desenvolvimento e a produção da cebolinha.

2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar a incidência e a severidade do míldio em folhas de cebolinha, durante um período de 40 dias;
- Avaliar o desempenho vegetativo da cultura, como: número de folhas, comprimento médio das folhas, número de maços, produção comercial e massa fresca e seca das folhas de cebolinha;
- Analisar a absorção de cobre (Cu) e nitrogênio(N) nas folhas de cebolinha, após a aplicação do fertilizante foliar CC;
- Avaliar a taxa de inibição do crescimento micelial de *P. destructor* no controle *in vitro*, do fertilizante foliar CC com diferentes concentrações do produto.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Aspectos gerais da cebolinha

As hortaliças são popularmente conhecidas como verduras e legumes e têm papel importante na mesa do brasileiro, por serem fontes de fibras, vitaminas e minerais. As partes que a compõem, sendo comestíveis, são as raízes tuberosas, tubérculos, caules, folhas, flores, frutos e sementes (ARAÚJO *et al.*, 2007; SÁ *et al.*, 2019). As hortaliças possuem alto valor nutritivo, principalmente por conterem sais minerais e vitaminas, sendo recomendado o seu consumo no cardápio, como forma de suprir as necessidades diárias desses elementos. Além disso, o consumo de hortaliças facilita a digestão dos alimentos (SÁ *et al.*, 2019; LANA, MOITA, 2020).

Dentre as hortaliças, encontra-se a cebolinha (*Allium fistulosum* L.), também conhecida como cebolinha-comum. Originária da Sibéria, a cebolinha pertence à família das Aliáceas e no Brasil é uma das plantas mais utilizadas como tempero, principalmente em períodos festivos (FREDDO *et al.*, 2014; CARVALHO *et al.*, 2019). Assim como a produção de outras hortaliças folhosas, como alface, salsa e coentro, a cebolinha desempenha um papel importante na economia, principalmente para os pequenos produtores no Brasil, uma vez que, em algumas regiões, a cultura serve como complemento de renda aos pequenos produtores. De acordo com Carvalho *et al.* (2019), a cebolinha é uma das principais hortaliças cultivadas, sendo bastante utilizada na culinária das regiões Norte e Nordeste, sendo também cultivada em regiões temperadas e subtropicais no mundo todo (MATOS *et al.*, 2017).

A cultura se destaca por ser uma das hortaliças mais utilizadas e comercializadas no mundo todo. Rica em vitaminas A e C, há inúmeras maneiras de utilizá-la, tanto na elaboração de pratos como na fabricação de temperos. Serve como estimulante do apetite, ajuda no combate à gripe e às doenças das vias respiratórias, além de auxiliar a digestão. (ZÁRATE *et al.*, 2005; HEREDIA *et al.*, 2010; SIMÕES *et al.*, 2017; SOUZA *et al.*, 2015).

Quanto às características fisiológicas da planta de cebolinha, é considerada perene, apresenta folhas cilíndricas e fistulosas, com 0,30 a 0,50 m de altura, coloração verde-escura, e produz pequeno bulbo cônico, envolvido por uma película rósea, com perfilhamento e formação de touceira (HEREDIA *et al.*, 2010; FILGUEIRA, 2013; PADULA *et al.*, 2022).

A cebolinha é de fácil cultivo, suporta frios prolongados e existem cultivares que resistem bem ao calor. Embora tenha poucas restrições quanto ao seu plantio, que pode ser realizado em qualquer época do ano, (PEREIRA *et al.*, 2014) a faixa de temperatura ideal para o cultivo fica entre 8 e 22 °C, ou seja, em condições amenas. Portanto, o perfilhamento é maior nos plantios de fevereiro a julho, nas regiões produtoras do Brasil.

A cebolinha prefere solos sílico-argilosos – desde que sejam férteis, profundos e bem drenados – a areno-argilosos, com pH entre 6,0 e 6,5 e com bom teor de matéria orgânica. A adubação normalmente consiste na adição de esterco de galinha, na dose de 5 a 10 L m⁻² (FILGUEIRA, 2008).

Para se adquirirem mudas de cebolinha, geralmente é feita a divisão da touceira, mas é possível ser plantada a partir de sementes. Devido ao rebrotamento, efetuam-se diversas colheitas;

contudo, também se pode colher a planta de uma única vez (KANEKO, 2006).

A colheita da cebolinha inicia-se entre 55 e 60 dias após o plantio ou entre 85 e 100 dias após a semeadura, quando as folhas atingem de 0,20 a 0,40 m de altura. Para o consumo e comercialização da cebolinha, utiliza-se a planta toda, menos as raízes. (ZÁRATE *et al.*, 2005; ZARATE *et al.*, 2010). Trata-se de uma planta altamente perecível após a colheita, devido ao elevado conteúdo de água, alta atividade metabólica e manejo deficiente em pós-colheita (GONZÁLES *et al.*, 2012). As folhas da cebolinha são suscetíveis à rápida perda de água após a colheita, acarretando diversas mudanças na aparência, metabolismo e composição da hortaliça, com consequentes alterações na coloração e na qualidade nutricional (WILLS *et al.*, 2007; FRANÇA *et al.*, 2015).

Para as etapas de comercialização das folhas da cebolinha, as mesmas são selecionadas, preparadas e comercializadas predominantemente na forma de maços, popularmente conhecidos como cheiro-verde em mercados e feiras de todo o Brasil (MATOS *et al.*, 2011; SCHMITT *et al.*, 2016). No sistema de cultivo convencional a campo, as plantas são colhidas mediante corte da parte aérea, e, para a formação de maços, as folhas senescentes e ou secas devem ser retiradas, sendo comercializadas apenas as folhas sadias. Geralmente, a comercialização das folhas da cebolinha é feita em maços, juntamente com outras hortaliças folhosas, como salsa e/ou coentro (SCHMITT *et al.*, 2016).

3.2 Fatores bióticos e abióticos que causam danos à cebola e à cebolinha

Embora a cebola e a cebolinha sejam de fácil manejo e com baixo custo de produção, alguns entraves colaboram para a baixa produtividade, destacando-se alguns fatores bióticos e abióticos. Os fatores abióticos são: estresse hídrico, temperaturas muito elevadas e/ou muito baixas, competição por plantas daninhas, geadas, entre outros. A cultura também é afetada por fatores bióticos, sendo eles diversas doenças causadas por fungos, bactérias, vírus e nematoides, tais como: míldio, causado pelo fungo *Peronospora destructor*; antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. cepae); mancha púrpura (*Alternaria porri*); raiz rosada (*Pyrenochaeta terrestris*); podridão-basal (*Fusarium oxysporum* f. sp. cepae); queima-das-pontas (*Botrytis* spp.); podridão-branca (*Sclerotium cepivorum*) e nematoide-das-galhas (*Meloidogyne* spp.) entre outras (PERREIRA *et al.*, 2013; SILVA *et al.*, 2019). Esses problemas fitossanitários causam danos desde o plantio, a colheita e a pós-colheita. Esses agentes causam perdas significativas na produção de folhas, semente e bulbos, comprometendo a comercialização desses produtos (MISHRA *et al.*, 2014). Dentre as doenças citadas as fúngicas são as mais prejudiciais às plantas, sendo responsáveis por aproximadamente 70-80% das doenças das culturas, reduzindo significativamente a produção agrícola e até causando reduções desastrosas no rendimento e impactos econômicos negativos na agricultura (MCGRATH, 2012; CHEN *et al.*, 2022).

Alguns tratamentos culturais são adotados para reduzir danos de patógenos que causam tais doenças: uso de cultivares superiores e de técnicas modernas de produção, como irrigação, semeadura direta, mecanização da produção, adubação balanceada, entre outros. Associados ao uso de sementes de melhor padrão genético, esses tratamentos vêm favorecendo aumentos gradativos e constantes no rendimento (YURI *et al.*, 2019).

3.3 Míldio na cebola e cebolinha

Dentre os fatores prejudiciais à produção da cebola e cebolinha, encontram-se os fungos dos Oomicetos causadores do míldio, levando danos severos às plantas, com perda da produção parcial ou mesmo total da cultura, principalmente na época mais fria do ano. De acordo com Wordell Filho *et al.* (2007), o míldio é uma doença muito importante devido à velocidade com que se propaga na cultura, o que pode ocasionar grandes perdas.

Segundo Develash e Sugha (1997), Pereira *et al.* (2014) e Menezes junior *et al.* (2021), as perdas como consequência da epidemia de míldio podem chegar a 75% da produção de bulbos na cultura da cebola, devido à velocidade com que o patógeno se propaga na cultura. Para Wordell Filho *et al.* (2006), míldio é uma importante doença na cultura e está amplamente disseminada em regiões de clima temperado, onde são frequentes os períodos de temperaturas amenas, alta umidade e baixa luminosidade.

O míldio na cebolinha é causado pelo fungo *Peronospora destructor*, pertencente à família Peronosporaceae, ordem Peronosporales, classe Oomicetos (WORDELL FILHO *et al.*, 2006; ACHARYA, SHRESTHA., 2018). Na cultura da cebolinha, há relatos de ocorrência da doença e/ou ataque do patógeno em todos os estágios de crescimento. A doença é caracterizada pela presença dos sinais nas folhas de cor ligeiramente branca a cinza, com lesão circular ou elíptica afundada. Tais lesões são encontradas em um único lado do caule e principalmente nas folhas mais velhas. Depois da infecção, a cor da folha muda de verde claro para amarelo, seguindo-se de necrose de uma área particular e crescimento micelial nas folhas da cebolinha, que geralmente consistem em esporângios e o esporangióforos com características de ramificação. Com o progresso da doença, a infecção vai induzindo atrofiamento, desfolhamento, declínio e morte de tecidos vegetais (DOMINGUES; TÖFOLI., 2009; ANKITA *et al.*, 2020).

Os sintomas da doença surgem principalmente em épocas com temperaturas mais baixas, inferiores a 22 °C, e alta umidade relativa do ar. O míldio é uma doença com ocorrência mais comum no Sul do país. Contudo, essa doença pode ocorrer também de forma variável nas regiões Sudeste e Centro-oeste, nas épocas mais frias do ano (MARCUIZZO *et al.*, 2016; ANKITA *et al.*, 2020; MENEZES JUNIOR *et al.*, 2021).

O oomiceto sobrevive em plantas voluntárias de cebola, cebolinha e alho, em bulbos e sementes infectados, servindo como fontes de inóculo (PEREIRA *et al.*, 2014; MENEZES JUNIOR *et al.*, 2021). Para esse grupo de fungos, há duas formas de reprodução, destacando-se a assexuada, que dará origem a zoósporos móveis em um zoosporângio, os quais, ao entrarem em contato com água livre no limbo foliar das plantas, darão origem a novos ciclos da doença. No que tange à reprodução sexuada, a união dos gametângios masculinos (anterídios) e femininos (oogônios) formará um zigoto denominado de oósporo (GOULD, 2010). Esporos sexuais, denominados oósporos, podem persistir no solo e infectar plantas de cebola e/ou cebolinha no plantio seguinte. Contudo, o plantio de bulbos infectados aparece como o ponto inicial do ciclo primário da doença. Após o ciclo primário, o míldio é disseminado no campo por meio de estruturas reprodutivas

(esporângios) e esporos (zoósporos), por correntes de ar e pela água. Os esporos são produzidos em noites com temperaturas inferiores a 22°C e umidade relativa acima de 95% e liberados pela manhã, podendo se manter viáveis por até quatro dias. Na presença de água livre, os esporos germinam e penetram as folhas. Após o estabelecimento do patógeno, seu ciclo de vida se completa. Entretanto, com temperaturas altas e baixa umidade do ar, os esporos não germinam; ocorre, assim, a paralisação do desenvolvimento e não há esporulação de *P. destructor* (PEREIRA *et al.*, 2014).

Sendo assim, pode se dizer que o progresso de epidemias de míldio na cultura da cebola e na cebolinha é altamente dependente das condições climáticas, as quais influem na disseminação e sobrevivência dos esporos de um ciclo da doença, até que novas infecções ocorram (WORDELL FILHO *et al.*, 2006).

Para Marcuzzo; Duffeck (2016), o estabelecimento de uma doença depende da interação entre ambiente, patógeno e hospedeiro. Com relação ao ambiente, a temperatura e o molhamento foliar são fundamentais para o processo epidemiológico. De acordo com o relatado por Marcuzzo e Moraes (2017), o conhecimento da biologia do patógeno é de grande importância para compreender a epidemiologia e o desenvolvimento da doença no campo, bem como para tomar medidas de manejo da doença.

O míldio é uma doença que compromete o desenvolvimento fisiológico da planta. Técnicas como rotação de cultura, vigor das plantas transplantadas, bem com o uso de fungicidas específicos contribuem para a redução da incidência desses patógenos (GONZÁLEZ *et al.*, 2010). Em complemento à abordagem anterior, Mishra *et al.* (2014) e Gilardi *et al.* (2020) relatam que são utilizados produtos químicos no controle de doenças e pragas, como fungicidas e inseticidas, porém o uso descontrolados desses agentes químicos geram sérios problemas ambientais, afetando os insetos polinizadores, fungos antagonistas e inimigos naturais.

3.4 3.4 Medidas de controle do míldio na cebola, alho e cebolinha

Na literatura são relatadas algumas medida de controle para a doença do míldio, bem como o controle preventivo, que consiste em evitar áreas de baixadas para o plantio e locais com alta umidade do ar; utilizar bulbos e sementes sadios para plantio; eliminar os restos culturais; fazer rotação de cultura, utilizar cultivares resistentes, drenagem do solo e bloqueio de vento na área cultivada (DEVELASH, SUGHA, 1997; KRAUTHAUSEN *et al.*, 2001). Uma outra medida de controle é controle químico. Segundo os dados do AGROFIT (BRASIL, 2022), o fungicida registrado para a cultura da cebolinha é Revus - mandipropamid (éter mandelamida) + mandipropamid – ingrediente ativo (éter mandelamida- grupo químico) modo de ação sistêmico. Assim como outras espécies do gênero *Allium* (cebola e alho), para controle químico dessa e das demais espécies, as pulverizações com fungicidas sistêmicos são recomendadas assim que as condições ambientais forem favoráveis ao desenvolvimento da doença (temperaturas baixas, alta umidade do ar e presença de neblina). Alguns fungicidas são indicados para o alho e cebola da mesma família da cebolinha, como Mancozeb®, Oxiclreto de cobre, Captan ou Metalaxil/Clorothalonil, para controle do míldio. Os fungicidas devem ser aplicados de forma alternada (rotação de ingredientes ativos) em intervalos de

sete a dez dias quando as condições estiverem favoráveis ao progresso da doença (BRASIL, 2022; PEREIRA *et al.*, 2014).

As variedades de cebola e cebolinha em geral cultivadas não apresentam resistência à incidência de *P. destructor*. Conseqüentemente, o controle vem sendo feito com pulverizações de fungicidas protetores (Mancozeb, Oxicloreto de cobre) e sistêmicos (Metalaxil, Revus). Essas classes de fungicidas contribuem para a redução da incidência de patógenos, sendo praticamente o método de controle mais utilizado pelos agricultores (GONZÁLEZ *et al.*, 2010; MARCUZZO *et al.*, 2016). Entretanto, muitas doenças de plantas têm sido controladas por métodos empíricos, conseqüentemente tornando desnecessário o uso de agrotóxicos e o aumento dos custos de produção, que comprometem a rentabilidade financeira da cultura, além de impactar o meio ambiente e a possibilitar a permanência de resíduos no produto oferecido ao consumo da população (WORDELL FILHO *et al.*, 2007). Segundo os mesmos autores, o uso racional de fungicidas preventivos pode reduzir a severidade da doença, sem comprometer a produtividade.

Alguns agricultores buscam uma produção menos contaminada para a comercialização, principalmente de hortaliças folhosas. Sendo assim, medidas de controle alternativo aos produtos fungicidas vem sendo cada vez mais utilizadas nos últimos anos, como o uso de fertilizantes foliares no controle de fungos. Produtos à base de cobre, como o fosfito de cobre e nonopartículas de cobre, têm sido considerados como potenciais no controle de alguns fungos, como *Pythium* sp e *Phytophthora*, da mesma classe dos oomicetes (SANTOS *et al.*, 2018; VANTI *et al.*, 2020). Pode-se considerar também o CC, por ser um fertilizante à base de cobre ativo, que fornece cobre prontamente absorvível para a planta e pode controlar a doença do míldio, O fertilizante foliar apresenta, na sua composição, nitrogênio (N) 4,09% (54,81 g/L); cobre (Cu) 10,0% (134 g/L); carbono orgânico 3,53%, sendo todos esses elementos solúveis em água e complexados por aminoácidos 5%. (GARRIDO, 2017).

3.5 Fertilizante foliar, cobre e fungicida no controle de fungos

Os fertilizantes podem ser caracterizados como sendo substâncias que aumentam a disponibilidade de nutrientes na planta, de modo a suprir a quantidade já existente para o desenvolvimento e crescimento mais efetivo, e podem ser aplicados via semente, solo, fertirrigação e/ou via aplicação foliar (GOWARIKER, 2009; BRASIL, 2016).

A adubação foliar é uma prática extremamente importante para a exploração racional das culturas agrícolas, sendo fundamental para a obtenção de bons rendimentos. Quando aplicada de forma adequada e bem equilibrada, a adubação foliar traz ao produtor não só ganhos em produtividade, mas também a melhoria da qualidade da produção, do estado fitossanitário das plantas, entre outros benefícios (PORTO *et al.*, 2012).

A aplicação de fertilizantes foliares tem sido utilizado cada vez mais, não só no exterior como também no Brasil, em virtude, dentre outros fatores, da necessidade de se buscar altas produtividades das culturas. Nesse contexto, produtos cada vez mais eficientes e econômicos têm

sido desenvolvidos para satisfazer as exigências nutricionais das plantas, levando a um aumento significativo da disponibilidade de produtos comerciais contendo micronutrientes nos últimos anos (PERREIRA; MELO, 2002; MINIKOWSKI, 2018).

As pulverizações foliares de fertilizantes têm sido usadas para fornecer micronutrientes essenciais para as vias metabólicas necessárias para reforçar as barreiras de resistência contra patógenos de planta – como a cera camada e a parede celular –, e também para atuar como cofatores de diversos enzimas envolvidas nas respostas de defesa, conteúdo de clorofila e fotossíntese (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Entre os agentes antimicrobianos inorgânicos, os compostos com o micronutriente cobre têm sido amplamente utilizados na agricultura como fungicida, pesticida, algicida e herbicida, bem como em pecuária, como desinfetante (KANHED *et al.*; 2014). O cobre, mais importante ainda como um elemento mineral essencial, desempenha um papel importante, ativando a resposta de defesa das plantas, com efeito antimicrobiano e bacteriostático, auxiliando no controle de doenças em plantas (CARVALHO *et al.*, 2012; SATHIYABAMA; MANIKANDAN, 2018). O cobre é conhecido por exibir um biocida de amplo espectro e inibir efetivamente o crescimento de bactérias, fungos e algas (CHOWDHURY *et al.*, 2013) e tem sido usado como fungicida desde 1882 na área de Bordeaux, na França, onde observaram que uma mistura de cobre, sulfato e cálcio causaram uma redução na porcentagem do fungo *Plasmopara viticola* em plantas de uva. Essa mistura, conhecida como mistura de Bordeaux ou calda bordalesa, ainda é usada para prevenir danos em diversas culturas, causados por diversos tipos de fungos. Desde então, muitos agroquímicos à base de cobre têm sido produzidos e usados na agricultura, como oxicloreto de cobre (CuCl_2), hidróxido de cobre [$\text{Cu}(\text{OH})_2$] e óxido cuproso (Cu_2O) (GIANNOUSI *et al.*, 2013).

Fungicida, do latim *fungus* (= fungo) + *caedo* (= matar), “matador de fungo” e/ou substância química que mata fungos (REIS; BRESOLIN, 2007), são produtos químicos capazes de prevenir infecção de tecido de plantas vivas por fungos fitopatogênicos. Um conceito mais abrangente diz que fungicidas são compostos químicos empregados no controle de doenças causadas por fungos, bactérias e algas (GARCIA, 1999; REIS; BRESOLIN, 2007). Entretanto, uma substância química, para ser fungicida, não necessita obrigatoriamente matar o fungo. Alguns atuam no controle da doença, controlando o crescimento micelial ou esporulação do fungo. São chamados de substâncias fungistáticas (REIS; BRESOLIN, 2007).

A classificação dos fungicidas é geralmente baseada na natureza química e no modo de ação do produto contra o fitopatógeno: são protetores ou de contato, erradicantes e sistêmicos, fungistático, antiesporulante, preventivo, etc. (ZAMBOLIM *et al.*, 1995). Os fungicidas não devem ser tóxicos ao homem e aos animais, principalmente aqueles aplicados diretamente na proteção do órgãos comestíveis, como frutas, hortaliças e cereais (GARCIA, 1999; GILARDI *et al.*, 2020).

Os fungicidas sistêmicos normalmente não atuam como os protetores, nem inibem a germinação dos esporos e tubo germinativo dos fungos na superfície dos tecidos; porém, apresentam grande efeito inibidor a qualquer desenvolvimento fúngico no interior da planta. Como primeiro passo da translocação, o fungicida deve penetrar na planta, seja via radicular, foliar, através do caule ou das sementes. O transporte de fungicidas se dá tanto via radicular quanto por via foliar e, dependendo de

suas propriedades, poderá translocar pelo floema (GARCIA,1999; REIS *et al.*, 2010).

O controle químico dos oomicetes apresentam características de ação protetora (multissítios) e não sistêmicos capazes de atingir uma vasta gama de patógenos, ou seja, um largo espectro de ação. A exemplo, o Clorothalonil, sozinho ou associado a outro fungicida, (CAMARGOS, 2017). Os fungicidas protetores são aplicados antes da presença do inóculo nos sítios de infecção e ficam depositados nos órgãos das plantas, que absorvem o produto e impedem os esporos de germinar (REIS *et al.*, 2010).

Os fungicidas têm funções controladoras específicas, especialmente durante a pré-penetração, colonização e infecção dos fungos. Para controlar o crescimento dos fungos, os produtos devem alcançar o interior das células, agindo sobre organelas e processos fisiológicos e desencadear o colapso do patógeno. Uma vez no interior das células, agem sobre a parede celular, membrana, mitocôndria, causando desordens respiratórias, prejudicando a síntese de proteínas, a funcionalidade de membranas e outros processos relativos a núcleo e pigmentos. As células dos fungos são envoltas por uma camada chamada de parede celular, as quais apresentam seleção para a entrada e saída de substâncias (REIS *et al.*, 2010).

Os fungicidas protetores inibem a germinação de esporos e tubo germinativo dos fungos na superfície dos tecidos da planta (GARCIA, 1999; GOVERS *et al.*, 2017), penetram no interior dos microorganismos, provocando reações químicas não específicas, com grupamentos sulfidrílicos (SH), amino (NH₂), Hidroxilicos (OH), presentes nas proteínas, com ácido nucleicos e seus precursores em várias rotas metabólicas; por exemplo, o Maneb, oxicloreto de cobre e o sulfato de cobre (ZAMBOLIM *et al.*, 1995;GOVERS *et al.*, 2017).

De acordo com relatos de Vasconcelos (2018), Gilardi *et al.* (2020) e Andrade *et al.* (2017); Vanti *et al.* (2020), apesar da eficiência do uso de fungicidas no controle de patógenos de plantas, a utilização incorreta pode causar danos ao meio ambiente e à saúde humana. Frequentemente, os fungicidas se mobilizam pela água, ar e solo. Os autores relatam, ainda, que medidas alternativas de controle devem ser testadas para evitar uso excessivo de fungicidas. A busca por novos fungicidas é importante, devido ao aumento gradual de novas cepas de fungos resistentes.

REFERÊNCIAS

- ACHARYA, B. R.; SHRESTHA, K. nitrogen level and irrigation interval on mitigating *Stemphylium* blight and downy mildew in onion. **Int. J. Appl. Sci. Biotechnol.**, v. 6, n.1, p. 17-22, 2018.
- ANDRADE, N.; VENEGAS, C.; CANCINO, B.; DOUSSOULIN, H. Utilización de *Trichoderma* spp. e hidróxido de cobre, como tratamiento foliar, para el control del tizón tardío de la papa (*Phytophthora infestans*). **Agro Sur**, v. 45, n. 1, p. 31-38, 2017.
- ANKITA; CHANDEL, S.; SHARMA, R.; MEENA, K. V. Epidemiological studies of downy mildew of onion. **Jornal Internacional de Microbiologia Atual e Ciências Aplicadas**, v. 9, n.5, p.1, 2020.
- ARAÚJO, W.M.C; MONTEBELLO, N.P; BOTELHO, R.B.A. Alquimia dos alimentos. Brasília: Senac. Nutrição mineral de plantas de maxixe-do-reino. **Pesq. Agrop. Bras.**, v. 40, p. 719-722, 2005.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução normativa MAPA nº 46, de 22 de novembro de 2016**. [S. l.]: [s. n.], 2016. Disponível em: encurtador.com.br/afgmU. Acesso em: 5 jun. 2022.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Portaria MAPA nº 52, de 15 de março de 2021**. Regulamento Técnico para os Sistemas Orgânicos de Produção e as listas de substâncias e práticas para o uso nos Sistemas Orgânicos de Produção. Disponível em: <https://abrir.link/GY8Rj>. Acesso em: 5 maio 2023.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento: **AGROFIT**, 2022. Disponível em: https://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em: 5 jun. 2022.
- CARVALHO, L. F.; SANTOS, G. M.; CAMPOS, C. M F. Qualidade microbiológica da cebolinha (*Allium schoenoprasum* L.) produzida em hortas comunitárias de Teresina-PI. **Archives of Health Investigation**, v. 8, n. 6, p. 278-281, 2019.
- CARVALHO, V. L.; CUNHA, R. L.; SILVA, N. R. N. Alternativas de controle de doenças do cafeeiro. **Coffee Science**, v. 7 n.1, p.42-49, 2012.
- CAMARGOS, R. Ferrugem asiática da soja. **Informativo Técnico Nortox**, 2017.
- CHEN, J.; WU, L.; SONG, K.; ZHU, Y.; DING, W. Nonphytotoxic copper oxide nanoparticles are powerful “nanoweapons” that trigger resistance in tobacco against the soil-borne fungal pathogen *Phytophthora nicotianae*. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 21, n. 11, p. 3249, 2022.
- CHOWDHURY, M. N. K., BEG, M. D. H.; MAKSUDUR, R. K.; MINA, M.F. Synthesis of copper nanoparticles and their antimicrobial performances in natural fibres. Journal homepage. Elsevier B.V. All rights reserved. **Materials Letters**, v. 98, n. 1, p. 26–29, 2013.
- DEVELASH, R. K.; SUGHA, S. K. Incidence of onion downy mildew and its impact on yield. **Indian Phytopathology**, v.50, p. 127-129, 1997.
- DOMINGUES, R. J; TÖFOLI, J. G. Importância, identificação e métodos de controle. **Biológico**, São Paulo, v. 71, n. 1, p. 29-31, 2009.
- FILGUEIRA, F. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. Viçosa: UFV, 2008.
- FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura: Agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. 3. ed. Viçosa: UFV, p.421, 2013.
- FRANÇA, C. F. M.; RIBEIRO, W. S.; SILVA, F. C.; COSTA, L. C.; RÊGO, E. R.; FINGER, F. L. Hydrocooling on postharvest conservation of butter lettuce. **Horticultura Brasileira**, v. 33, n. 3, p. 383-387, 2015.

FREDDO, A. R.; MAZARO, S. M. Conservation of post-harvest leaves of green onion (*Allium fistulosum*) with the use of salicylic acid solution. **Brazilian Journal of Applied Technology for Agricultural Science**, Paraná, v. 6, n. 3. p. 87-94, 2014.

GARCIA, A. **Fungicidas I: utilização no controle químico de doenças e sua ação contra os fitopatógenos**. Porto Velho: Embrapa Rondônia, 1999. p. 8-23. (Documentos / Embrapa; Rondônia, 46).

GARRIDO, R. L. **Redução da adição ambiental de cobre utilizando outras formulações cúpricas em relação à calda bordalesa para o controle do míldio tardio da videira**. Bento Gonçalves: Embrapa, 2017. (Comunicado Técnico, 195).

GIANNOUSI, K.; AVRAMIDIS, I.; DENDRINO-SAMARA, C. SYNTHESIS, characterization and evaluation of copper based nanoparticles as agrochemicals against *Phytophthora infestans*. **RSC Advances**, v. 3, p. 21743-21752, 2013.

GILARDI, G.; GARIBALDI, A.; GULLINO, M. L. Integrated management of downy mildew of basil. **Crop protection**, v. 137, p.105-202, 2020.

GOULD, A. B. Fungos Fitopatogênicos e Oomicetos. *In*: TRIGIANO, R. N.; WINDHAM, M.T.; WINDHAM, A. S. **Fitopatologia: conceitos e exercícios de laboratório**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. 576 p.

GONZÁLES, A.; CÁEZ, G.; MORENO, F.; RODRÍGUEZ, N.; SOTELO, I. Análisis combinado acústico-mecánico durante el almacenamiento de cebolla (*Allium festulosum*) mínimamente processada. **Scientia Agro pecuaria**, Trujillo, v. 2, n. 2, p. 117-122, 2012.

GONZÁLEZ, P. H.; COLNAGO, P.; PELUDO, S.; GONZÁLEZ, H. I.; ZIPITRÍA J.; GALVÁN, G. A. Accepted Quantitative studies on downy mildew (*Peronospora destructor* Berk.Casp.) affecting onion seed production in southern Uruguay. **European Journal Plant Pathology**, 2010.

GOVERS, L.L.; ZEE, E.M.V.; MEFFERT, J.P.; RIJSWICK, P.C.J.; VELD, W.A.M.; HEUSINKVED, J.H.T.; HEIDE, T.V. Copper treatment during storage reduces *Phytophthora* and *Halophytophthora* infection of *Zostera marina* seeds used for restoration. **Scientific Reports**, v. 7, p. 43172, 2017.

GOWARIKER, V. **The Fertilizer Encyclopedia**. 1. ed. New Jersey: John Wiley & Sons, 2009.

HEREDIA ZÁRATE, N. A.; MATTE, L. C.; VIERA, M. C.; GRACIANO, J. D.; HEID, D. M.; HELMICH, M. Amontoas e cobertura do solo com cama-de-frango na produção de cebolinha, com duas colheitas. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 32, n. 3, p. 449-454, 2010.

KANHED, P.; BIRLA, S.; GAIKWAD, S.; GADE, A.; SEABRA, A.B.; RUBILAR, O.; DURAN, N.; RAI, M. *In vitro* antifungal efficacy of copper nanoparticles against selected crop pathogenic fungi. **Materials Letters**, v. 115, p.13-17, 2014.

KANEKO, M. G. **Produção de coentro e cebolinha em substratos regionais da Amazônia à base de madeira em decomposição (paús)**. 2006. 37 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2006.

KRAUTHAUSEN, H. J.; RICHTER, E., HAGNER, S., HOMMES, M. Epidemiology and control (based on thresholds) of leaf diseases (*Peronospora destructor*, *Botrytis spp.*) and thrips (*Thrips tabaci*) in onion. **Acta Horticulturae**, v. 25, p. 137-140, 2001.

LANA, M. M; MOITA, A. W. **Qualidade visual e perdas pós-colheita de hortaliças folhosas no varejo**. 1. ed. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2020. 184 p.

MARCUZZO, L. L.; DUFFECK, M. R. Influência da temperatura e da duração do molhamento foliar na severidade do míldio da cebola. **Summa Phytopathologica**, v. 42, n. 4, p. 369-371, 2016.

MARCUZZO, L. L.; MENEZES JUNIOR, O. G. F.; GONÇALVES, S. A. P. Severidade do míldio da cebola em diferentes sistemas de produção. **Summa Phytopathologica**, v. 42, n. 4, p. 366-368, 2016.

MARCUZZO, L. L.; MORAES, J. C. V. Efeito da temperatura e do fotoperíodo na germinação in vitro de esporângios de *Peronospora destructor*, agente etiológico do míldio da cebola. **Summa Phytopathol.**, Botucatu, v. 44, n. 1, p. 92, 2017.

MATOS, K.S.; HANADA, R.E.; SILVA, G.F.; SOUSA, N.R. First report of anthracnose on welsh onion (*Allium fistulosum* L.) in Brazil caused by *Colletotrichum theobromicola* and *C. truncatum*. **Plant Disease**, v. 101, n. 6, p. 1055, 2017.

MCGRATH, M.T. What are Fungicides. **The Plant Health Instructor**, 2012. DOI: 10.1094/PHI-I-2004-0825-01.

MENEZES JÚNIOR, F. O. G.; RESENDE, R. S.; ARAÚJO, E. R. Severidade do míldio da cebola em sistema superadensado para as condições do Alto Vale do Itajaí – SC. **Summa Phytopathologica**, v. 47, n. 2, p. 116-121, 2021.

MINIKOWSKI, A. L. **Avaliação da produtividade de soja em resposta a utilização de fertilizantes foliares**. 2018. Trabalho de Conclusão de Curso (Manejo de Culturas Anuais) – Especialização em Manejo de Culturas Anuais, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, 2018.

MISHRA, R. K.; JAISWAL, R. K.; KUMAR, D.; SAABALE, P. R. SINGH, A. Management of major diseases and insect pests of onion and garlic: **A comprehensive review**, v. 6, p. 160-170, 2014.

PADULA, G.; XIANZONG, X.; HOŁUBOWICZ, R. Welsh onion (*Allium fistulosum* L.) seed physiology, breeding, production and trade. **Plants**, v. 11, p. 343, 2022.

PEREIRA, B. R.; OLIVEIRA, R. V.; PINHEIRO, B. J. **Diagnose e manejo de doenças fúngicas na cultura da cebola**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2014. p.133.

PEREIRA, H.S.; MELLO, S.C. Aplicações de fertilizantes foliares na nutrição e na produção do pimentão e do tomateiro. **Horticultura Brasileira**, v. 20, n. 4, p.597-600, 2002.

PEREIRA, R. B.; PINHEIRO, J. B.; FERREIRA, A. D. **Diagnose e controle alternativo de doenças em alface, alho, cebola e brássicas**. Brasília: Embrapa, 2013. 120 p. (Circular Técnica, 120).

PÔRTO, M. L. A.; PUIATTI, M.; FONTES, P. C. R.; CECON, P. R.; ALVES, J. C.; ARRUDA, J. A. Produtividade e acúmulo de nitrato nos frutos de abobrinha em função da adubação nitrogenada. **Bragantia**, v. 71, n. 2, p.190-195, 2012.

REIS, E. M.; BRESOLIN, C. R. Fungicidas: Aspectos gerais. Agroquímicos. **Revista Plantio Direto**, Passo Fundo, p. 28-33, 2007.

REIS, E. M.; REIS, A. C.; CARMONA, M. A. **Manual de fungicidas: Guia para o controle químico de doenças em plantas**. 6. ed. Passo Fundo: Universidade de Passo Fundo, 2010. 226 p.

RIBEIRO, T. C.; WEIBLEN, C.; BOTTON, S. A.; PEREIRA, D. I. B.; JESUS, F. P. K.; VERDI, C. M.; GRESSLER, L. T.; SANGIONI, L. A.; SANTURIO, J. M. *In vitro* susceptibility of the oomycete *Pythium insidiosum* to metallic compounds containing cadmium, lead, copper, manganese or zinc. **Medical Mycology**, v. 55, n. 6, 2017.

SÁ, D. P.; GOMES, J. S.; MAIA, J. T. L. S. Parasitas em hortaliças folhosas comercializadas em Montes Claros (MG). **Scientia Agraria Paranaensis**, [s. l.], v. 18, n. 3, p. 303-307, 2019.

SANTANA, K. F. A.; GARCIA, C. B.; MATOS, K. S.; HANADA, R. E.; SILVA, G. F.; SOUSA, N. R. First report of anthracnose caused by *Colletotrichum spaethianum* on *Allium fistulosum* in Brazil. **Plant**

Disease, v. 100, n. 1, p. 224-225, 2016.

SANTOS, S. L.; CAMPOS, T.; DALLA COSTA, N. L.; MAZARO, S. M. Potencial de produtos à base de fosfitos no controle de *Pythium* sp. em condições *in vitro*. **Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia**, Guarapuava, v. 11, n. 1, p. 105-110, 2018.

SATHIYABAMA, M.; MANIKANDAN, A. Application of copper-chitosan nanoparticles stimulate growth and induce resistance in finger Millet (*Eleusine coracana* Gaertn.) plants against blast disease. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 66, p. 1784-1790, 2018.

SCHMITT, O. J.; ANDRIOLO, J. L.; LERNER, M. A.; SOUZA, J. M.; PICIO, M. D.; MAMBRI, A. P. Consórcio de salsa e cebolinha para produção de maços comerciais mistos de cheiro-verde. **Horticultura brasileira**, v. 34, n. 1, p. 114-120, 2016

MATOS, F. A. C.; SILVA, D. B.; BARRETO, L. U. T.; DIAS, R. L. **Cheiro-verde: Saiba como cultivar hortaliças para semear bons negócios**. [S. l.]: Sebrae, 2011. (Série Agricultura Familiar; Coleção Passo a Passo).

SIMÕES, A. C.; ALVES, G. K. E. B.; SILVA, N. M.; FERREIRA, R. L. F.; ARAÚJO NETO, S. E. Densidade de plantio e método de colheita de cebolinha orgânica. **Agropecuária Científica no Semiárido**, v. 12, n. 1, p. 93-99, ago. 2017.

SOUZA, B. P.; SIMÕES, A. C.; ALVES, G. K. E. B.; FERREIRA, R. L. F.; ARAÚJO NETO, S. E. Produtividade e rentabilidade de cebolinha orgânica sob diferentes densidades de plantio e métodos de colheita. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 11, n. 21, p. 1576-1585, 2015.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. p. 918.

VANTI, G. L.; MASAPHY, S.; KURJOJI, M.; CHAKRASALI, S.; NARGUND, V. B. Synthesis and application of chitosan-copper nanoparticles on damping off causing plant pathogenic fungi. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 156, p. 1387-1395, 2020.

VASCONCELOS, Y. Pesticides in the balance. **Revista Pesquisa FAPESP**, n. 271, 2018.

WILLS, R.; GRAHAM, D.; WILLS, R.; MCGLASSON, B.; JOYAC, D. **Postharvest: an introduction to the physiology and handling of fruit, vegetables and ornamentals**. [S. l.]: CABI, 2007.

WORDELL FILHO, J. A.; ROWE, E.; GONÇALVES, P. A.; DEBARBA, J. F.; BOFF, P.; THOMAZELLI, L. F. **Manejo Fitossanitário na cultura da cebola**. Florianópolis: EPAGRI, 2006. p.31-43.

WORDELL FILHO, J. A.; MARTINS, D. A.; STADNIK, M. J. Aplicação foliar de tratamentos para o controle do míldio e da podridão-de-escamas de bulbos de cebola. **Horticultura Brasileira**, v. 25, p. 544-549, 2007.

YURI, J. E.; COSTA, N. D.; RESENDE, G. M. Características produtivas de cultivares de cebola no submédio do Vale do São Francisco. **Cultura Agrônômica**, v. 28, n. 4, p. 452-460, 2019.

ZAMBOLIM, L.; VALE, F. X. R.; CHAVES, G. M. **Controle químico de doenças de plantas**. Brasília: ABEAS, 1995. 307p

ZÁRATE, N. A. H.; VIEIRA, M. C.; ONO, F. B.; SOUZA, C. M. Produção e renda bruta de cebolinha e de coentro em cultivo solteiro e consorciado. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 26, n. 2, p. 149-154, 2005.

ZÁRATE, N. A. H.; MATTE, L. C.; VIEIRA, M. C.; GRACIANO, J. D.; HEID, D. M.; HELMICH, M. Amontoas e cobertura do solo com cama-de-frango na produção de cebolinha, com duas colheitas. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 32, n. 3, p. 449-454, 2010.

4 ARTIGO

4.1 Controle de *Peronospora destructor* em *Allium Fistulosum* L. com fertilizante foliar à base de cobre

Este artigo foi elaborado conforme as normas da Revista Scientia Horticulturae.

Controle de *Peronospora destructor* em *Allium Fistulosum* L. com fertilizante foliar à base de cobre

Resumo

O míldio é uma doença fúngica que limita a produção da cebolinha (*Allium fistulosum*) devido a sua agressividade e dificuldade de controle. Neste trabalho, objetivou-se avaliar o controle *in vivo* e *in vitro* do agente causal do míldio da cebolinha com o fertilizante foliar Copper Crop®(CC), bem como o desenvolvimento e a produção da cultura. Para o experimento *in vivo*, foram aplicadas quatro concentrações de 0,125, 0,25, 0,50 e 0,75 mL.L⁻¹ do CC. Plantas pulverizadas com o fungicida de hidróxido de cobre na concentração de 5 mL.L⁻¹ (controle 2) ou sem aplicação de produto (controle 1) foram consideradas como testemunhas. Utilizou-se neste experimento o DBC, com quatro repetições. Foi feita a identificação morfológica e molecular do fungo, avaliou-se a incidência, a severidade, o desenvolvimento vegetativo, a produção e analisou-se a concentração de cobre e nitrogênio das folhas. No experimento 1 *in vitro*, avaliaram-se as concentrações de 0,125, 0,25, 0,50 e 0,75 mL.L⁻¹ do fertilizante CC e do hidróxido de cobre na mesma concentração (5 mL.L⁻¹) do experimento *in vivo* na inibição do crescimento micelial. Já no experimento 2 *in vitro*, foi avaliado o fertilizante CC nas concentrações de 1,0, 5,0, 10,0, 13,0 e 15,0 mL.L⁻¹ (concentrações de cobre compatíveis ao do fungicida). Utilizou-se o DIC, com 5 repetições. Pelas características morfológicas e moleculares, foi identificada a espécie *Peronospora destructor* como o agente causal da doença. Apenas o fungicida causou redução de 40% na incidência da doença. Porém, houve controle de 45% da severidade da doença com o fungicida e na maior concentração do produto CC. Para desenvolvimento vegetativo e produção, obtiveram-se resultados similares ao da severidade. Para o controle químico *in vitro*, o fungicida causou redução de 100% do micélio fúngico, enquanto que para o fertilizante CC essa redução ocorreu a partir da concentração de 5,0 mL.L⁻¹.

Palavras-Chaves: *Allium fistulosum*. Míldio. Fertilizante foliar. Controle químico.

Control of *Peronospora destructor* in *Allium Fistulosum* L. with copper foliar fertilizer

Abstract

Downy mildew is a fungal disease that limits the production of Bunching onion (*Allium fistulosum*) due to its aggressiveness and difficult control. In this work the objective was to evaluate the in vivo and in vitro control of the causal agent of downy mildew of Bunching onion with the Copper Crop[®](CC) foliar fertilizer, as well as the development and production of the crop. For the in vivo experiment were applied four concentrations of 0.125, 0.25, 0.50 and 0.75 mL.L⁻¹ of CC. Plants sprayed with copper hydroxide fungicide at a concentration of 5 mL.L⁻¹ (control 2) or without product application (control 1) were considered as controls. It was used in this experiment the DBC, with four replications. It was carried out the morphological and molecular identification of the fungus, they were evaluated the incidence, severity, vegetative development, production and it was analyzed the concentration of copper and nitrogen of the leaves. In experiment 1 in vitro were evaluated the concentrations of 0.125, 0.25, 0.50 and 0.75 mL.L⁻¹ of CC fertilizer and copper hydroxide at the same concentration (5 mL.L⁻¹) of the in vivo experiment on the inhibition of mycelial growth. Already in experiment 2 in vitro was evaluated CC fertilizer at concentrations of 1.0, 5.0, 10.0, 13.0 and 15.0 mL.L⁻¹ (copper concentrations compatible with that of the fungicide). It was used DIC, with 5 replications. By the morphological and molecular characteristics was identified the species *Peronospora destructor* as the causal agent of the disease. Only the fungicide caused a 40% reduction in the incidence of the disease. However, there was control of 45% of the disease severity with the fungicide and at the highest concentration of the CC product. For vegetative development and production, there were obtained similar results to of the severity. For the in vitro chemical control, the fungicide caused a 100% reduction in the fungal mycelium, while for the CC fertilizer this reduction occurred from the concentration of 5.0 mL.L⁻¹.

Keywords: *Allium fistulosum*. Downy mildew. foliar fertilizer. Chemical control.

1. Introdução

A cebolinha (*Allium fistulosum*), também conhecida como cebolinha-comum, é originária da Sibéria e pertence à família das Aliáceas. No Brasil, assim como a produção de outras hortaliças folhosas como alface, salsa, coentro, a cultura da cebolinha desempenha um papel importante na economia, principalmente, para pequenos produtores. A cebolinha é uma das principais hortaliças cultivadas, sendo bastante utilizada na culinária como tempero, principalmente em períodos festivos de inverno (Santana *et al.*, 2016; Carvalho *et al.*, 2019; Souza *et al.*, 2018; Silva *et al.*, 2019), sendo produzida por produtores em cinturões de hortaliças, nas regiões próximas aos grandes centros urbanos.

O cultivo da cebola e da cebolinha pode ser limitado devido a doenças fúngicas tais como: mancha púrpura (*Alternaria porri*), míldio (*Peronospora destructor*), queima das pontas (*Botrytis squamosa*), antracnose (*Colletotrichum* sp.), podridão mole (*Pectobacterium carotovorum* sub sp. *carotovorum*), podridão de escamas (*Burkholderia cepacia*) e mofo preto (*Aspergillus niger*, *Penicillium* sp., *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae*, *Rhizopus* sp.), entre outros (Marconatto *et al.*, 2017; Silva *et al.*, 2019; Marcuzzo *et al.*, 2020).

Dentre os principais problemas fitossanitários na cebolinha está o míldio causado por *P. destructor*. A doença é caracterizada pela presença dos sinais nas folhas de cor ligeiramente branco a cinza, com lesões deprimidas circulares ou elípticas. Tais lesões são encontradas em um único lado do caule e principalmente nas folhas mais velhas. Após a infecção, a cor da folha muda de verde claro para amarelo, seguindo-se de necrose de uma área particular. O crescimento micelial nos tecidos geralmente consiste em esporângios e o esporangióforos com características de ramificação. Com o progresso da doença, a infecção leva a atrofiamento, desfolhamento, declínio e morte de tecidos vegetais. Os sintomas surgem principalmente em épocas com temperaturas mais baixas, inferiores a 22°C, e alta umidade relativa do ar (Marcuzzo *et al.* 2016; Ankita *et al.*; 2020), favorecendo o aumento da disseminação da doença através do vento e das irrigações ou chuvas (Ankita *et al.*, 2020; Marcuzzo *et al.*, 2020; Fujiwara *et al.*, 2021). *P. destructor* tem limitado a produção de cebolinha devido a sua agressividade e existe uma carência de fungicidas recomendados para o controle. Entretanto, uma das dificuldades de controle de míldio em cebolinha se deve ao consumo *in natura*, ao sistema de produção orgânica, ao ciclo curto e ao período de carência do fungicida.

Entretanto, o uso de fertilizantes à base de cobre tem sido relatado por vários

pesquisadores no controle de *Phytophthora* spp., *P. infestans*, *Pythium* sp., *Pythium aphanidermatum* (Dalio *et al.*, 2014; Adaskaveg *et al.*, 2015; Zabrieski *et al.*, 2015; Goverset *et al.*, 2017; Santos *et al.*, 2018). O fertilizante foliar CC possui, em sua composição, 10% de cobre complexado com aminoácidos, podendo ser um produto promissor no manejo do míldio na produção da cebolinha, pois, além de fornecer cobre e ação nutricional às plantas, também pode ter ação fungicida. Barroso (2016) e Schumann (2018) avaliaram os fertilizantes foliares contendo cobre complexado com aminoácidos (FFCA, CC) no controle *in vivo* de *Xanthomonas campestris* pv. *Campestris* e observaram uma redução da severidade da doença da podridão negra do repolho.

Objetivou-se, assim, neste trabalho, avaliar o controle *in vivo* e *in vitro* do agente causal do míldio da cebolinha com o fertilizante foliar CC, bem como o desenvolvimento e a produção da cultura.

2. Material e métodos

2.1. Experimento *in vivo*

Instalação e avaliação do experimento: o experimento foi instalado durante os meses de junho e julho de 2021, em lavoura comercial na região do planalto rural do município de Montes Claros, no Estado de Minas Gerais, Brasil, com histórico de míldio em cebolinha. A área experimental está localizada na latitude Sul de 16° 53' 06,7" S, longitude 43° 51' 51" W, tem altitude de 991m e o clima, segundo a classificação de Koppen, é do tipo Aw-tropical de savana, com invernos secos e verões chuvosos. Para o preparo do solo, foi realizada uma aração e uma gradagem. Após o preparo do solo, as covas foram feitas com enxada para o plantio das mudas de cebolinha. Amostras de solo foram coletadas nas camadas de 0-20 cm para análise física e química do solo. Pelas análises de solo, as seguintes características físico-químicas foram: 17,00% argila, 67,90% areia, 15,10% silte, pH em água de 6,30 e 2,04 dag/Kg de matéria orgânica. A adubação orgânica foi feita utilizando esterco bovino e esterco de galinha curtido, os quais foram colocados nas covas um dia antes do plantio das mudas. Para obtenção das mudas de cebolinha, sementes da variedade "Todo ano" foram colocadas em bandejas e armazenadas em casa de vegetação. Após 10 dias, as mudas foram transplantadas para o campo, quando apresentaram entre duas a três folhas definitivas. As parcelas (canteiros) foram rentes ao solo, sem elevações. O protocolo de plantio seguiu o

padrão de cultivo do produtor rural, segundo o qual foi desenvolvido o experimento. O total de parcelas foram 24 (6 tratamentos x 4 repetições). O espaçamento entre parcelas foi de 1 x 0,50 m, cada parcela medindo 1 x 2 m e constituída por quatro linhas de cultivo, cada uma com vinte plantas, resultando em oitenta plantas no total. A parcela útil foi constituída de doze plantas centrais. O espaçamento utilizado foi de 25 cm entre as linhas de plantio e 10 cm entre as plantas (0,10 x 0,25m). A área experimental foi de 120m². Após o plantio, plantas de cebolinha com idade de 30 dias de idade e com sintomas de míldio foram pulverizadas com 20 litros do fertilizante foliar CC (N-4,09%, Cu-10,0%, CO-3,53%) nas concentrações de 0,125, 0,25, 0,50 e 0,75 mL.L⁻¹. Plantas pulverizadas com o fungicida Supera[®] (hidróxido de cobre 53,74%) na concentração de 5 mL.L⁻¹ (controle 2) ou sem aplicação de produto (controle 1) foram consideradas como testemunhas. Foram adicionados 1 mL.L⁻¹ de óleo mineral nas concentrações do fungicida e do fertilizante CC supracitados. As aplicações foram realizadas em intervalos de 3 dias durante 40 dias, até o período de colheita das folhas da cebolinha. Os produtos foram aplicados com pulverizador com bomba de CO₂, no período da tarde (após as 16h30min pm), nas doses conforme descrito para cada tratamento, até início do escorrimento do produto no limbo foliar. Nesse experimento, utilizou-se o delineamento experimental em blocos casualizados, com quatro repetições.

As irrigações foram feitas por microaspersor bailarina, em intervalos de 24 ou 48 horas, conforme a necessidade da cultura e as condições climáticas (temperatura e umidade do solo). O controle de plantas daninhas foi através da capina manual, sendo feitas duas capinas durante o ciclo da cultura. Os dados climatológicos, como temperatura e umidade do período experimental em campo, foram obtidos na estação meteorológica do tipo convencional do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), do município de Montes Claros, no Estado de Minas Gerais, Brasil, localizada a aproximadamente 25 km da área experimental.

Para avaliação em campo, foram feitas seis avaliações, de oito em oito dias, durante quarenta dias, sendo a primeira avaliação realizada no mesmo dia em que se iniciaram as aplicações dos produtos CC e do hidróxido de cobre. Avaliaram-se a incidência e a severidade de míldio em folhas de plantas de cebolinha semanalmente, sendo avaliadas as doze plantas centrais da parcela útil. Para a avaliação da severidade, usou-se a escala de notas de 0 a 9 conforme Mohibullah (1991). Para as avaliações do desenvolvimento vegetativo, como medições do número de folhas sadias por planta e comprimento médio das folhas das plantas, mediram-se as três maiores folhas de cada planta, com auxílio do metro milimetrado. Após os quarenta dias de cultivo avaliaram-se a produção final, a produção comercial, a massa fresca e

seca das plantas. A produção final do número de maços/m² (maços compostos com média de 12 folhas) de cada parcela. Para a produção comercial/m² (massa fresca total menos folhas doentes e ou danificadas), foi utilizada a balança de precisão para pesagem apenas das folhas saudáveis de cada parcela útil avaliada. Já para a produção da massa fresca e seca total de folhas/m², coletaram-se as folhas das parcelas úteis e pesou-se a massa fresca em balança de precisão. A seguir, as amostras foram colocadas em saco de papel Kraft liso e levadas para secagem em estufa a 65°C, por um período de sete dias, sendo pesados todos os dias, até que o peso do dia seguinte mantenha-se constante em relação ao peso do dia anterior e toda água presente nas folhas da cebolinha tenha sido eliminada. Após esse procedimento, as folhas secas foram pesadas, obtendo-se assim a massa seca.

Amostras foliares foram encaminhadas ao Laboratório Ribersolo (Laboratório de Análise Agrícola em Ribeirão Preto, SP) para a análise de cobre (Cu) e Nitrogênio (N), conforme metodologia de Silva (2009). Para realização da análise do teor de cobre no tecido foliar, pesaram-se 500 mg da massa seca e adicionaram-se 8,0 mL de uma mistura ácida de nítrico-perclórico na proporção 3:1, mantendo a amostra a frio por um período de 3 a 4 horas. A seguir, as amostras foram colocadas no bloco digestor, aquecendo lentamente até 120 °C. Após cessar o vapor castanho, a temperatura foi aumentada para 200 °C, até cessar o desprendimento do vapor branco. Após sair da digestão, o material foi diluído em 25,0 mL e levado para leitura no ICP-OES. Para realização da análise do teor de nitrogênio (N) em tecido vegetal, foram pesadas 100 mg da massa seca do material, juntamente com uma mistura catalítica feita com sulfato de potássio e óxido de mercúrio. Depois, adicionaram-se 2,0 mL de ácido sulfúrico concentrado e o material foi levado para um bloco digestor e aquecido lentamente até 330 °C. Após a digestão, o material foi clareado com peróxido de hidrogênio, destilado na presença de uma base forte e titulado com ácido sulfúrico 0,05 mol.L⁻¹, utilizando-se ácido bórico a 2% como solução indicadora.

Para identificação do patógeno, amostras foliares de cebolinha com sintomas e sinais do agente causal foram coletadas na área experimental antes da aplicação do fungicida ou do fertilizante foliar CC. A seguir, as amostras foram levadas para o Laboratório de Pesquisa em Fitopatologia (LPF) da UFMG, *Campus* Montes Claros, MG, para identificação morfológica do patógeno. A identificação morfológica foi baseada nas características dos esporângios e esporangióforos (Odhiambo, 1986; Langston & Sumner, 2000; Göker et al., 2007). Para identificação molecular, amostras foliares sintomáticas e materiais fúngicos coletados pela raspagem foliar adicionados em tubo de Eppendorf foram enviados para a Clínica

Agronômica (Laboratório de Diagnóstico Fitossanitário e Consultoria, Porto Alegre,RS). Para extração do DNA, os esporangiósporos foram moídos até a obtenção de um pó fino em N₂ líquido, utilizando-se um pistilo esterilizado e microtubo de 1,5 mL previamente congelado. A extração de DNA total, utilizando-se 100 mg de material moído homogeneizado, foi realizada com o kit Wizard Genomic DNA Purification (Promega, Madison, EUA), conforme as instruções do fabricante. Após a extração, o DNA foi quantificado em espectrofotômetro (Nanodrop Thermo Scientific modelo 2000), com a determinação da absorbância a 260 nm e 280nm. A concentração do DNA foi ajustada para 50 ng/μL, usando-se água ultrapura. A identidade molecular do isolado foi determinada por amplificação por PCR e sequenciamento das regiões espaçadoras transcritas internas (ITS), 5.8S rDNA e partes de 18S e 28S rDNA (White et al., 1990). O produto de PCR foi sequenciado em ambas as direções, utilizando-se os mesmos *primers* da PCR pela empresa ATCGene Molecular Analysis, utilizando um sequenciador automático AB-3500 (Applied Biosystems, EUA). As sequências obtidas foram editadas no programa BioEdit 7.0.5.3 e as sequências de consenso foram analisadas por meio do software Molecular Evolutionary Genetics Analysis – MEGAX (Kumar et al., 2018), construído com o algoritmo ClustalW e comparadas no banco de dados NCBI GenBank. As análises filogenéticas foram realizadas pelo método da Máxima Verossimilhança, por meio do programa MEGAX, utilizando-se 1000 repetições.

2.2. Experimento *in vitro*

O experimento *in vitro* foi realizado no LPF da UFMG, sendo realizados dois experimentos. No experimento 1, foram utilizadas as concentrações de 0,125, 0,25, 0,50 e 0,75 mL.L⁻¹ do fertilizante foliar CC e de 5 mL.L⁻¹ de hidróxido de cobre como substância de referência. As mesmas concentrações utilizadas em campo. Placas de Petri contendo meio BDA, sem acréscimo de produtos e inoculadas com o fungo foram consideradas como testemunhas. Para isso, os produtos foram dissolvidos em meio de cultura BDA e vertidos em placas de Petri de 90 mm de diâmetro. Foi utilizado o isolado de *P. destructor* obtido de plantas de cebolinha, o qual foi cultivado em meio BDA por 14 dias em temperatura ambiente. Em seguida, retiraram-se discos de 5 mm de diâmetro do meio de cultura contendo micélio fúngico do isolado e colocou-se um disco no centro das placas de Petri com as diferentes concentrações do fertilizante foliar CC e do hidróxido de cobre. As placas foram incubadas a temperatura ambiente e a avaliação do crescimento micelial foi feita medindo o

diâmetro das colônias de *P. destructor* em dois sentidos, horizontal e vertical, usando-se uma régua graduada (mm). As avaliações foram a cada dois dias, até atingir o crescimento total (90 mm) da placa usada como testemunha, sendo comparada com os demais tratamentos. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC), com cinco repetições. O cálculo da porcentagem de inibição do crescimento micelial foi determinado conforme equação descrita por Edgington *et al.* (1971).

Para o experimento 2, utilizou-se a mesma metodologia descrita anteriormente, porém, as concentrações do fertilizante foliar CC foram diferentes e foram avaliadas durante período de 16 dias. Nesse experimento, foi feita a comparação de inibição do crescimento micelial do CC nas concentrações 1,0, 5,0, 10,0, 13,0 e 15,0 mL.L⁻¹ (concentrações estas, maiores que as expostas no experimento 1) com a testemunha (hidróxido de cobre) 5 mL.L⁻¹. Para determinação de tais concentrações do CC, foi utilizada uma quantidade do produto com concentração de cobre existente no produto CC, sendo esta compatível com a quantidade de cobre existente na concentração 5 mL.L⁻¹ do fungicida (hidróxido de cobre). A concentração determinada foi de 13,0 mL.L⁻¹ e, a partir desta, foram definidas as demais concentrações.

2.3. Análises estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do programa estatístico R, versão 4.1.3 (*R Core Team*, 2022). Para isso, modelos lineares generalizados (GLM) foram construídos, utilizando-se a distribuição de erro mais adequada à natureza dos dados. Foi avaliado se os diferentes tratamentos ao longo do tempo influenciariam a severidade e incidência da doença, bem como a porcentagem de inibição do crescimento micelial de fungo em meio sólido, utilizando-se a distribuição de erro Binomial com função de ligação Logit, sendo a sobredispersão corrigida com a distribuição quasibinomial. Para avaliar a influência dos tratamentos sobre o número de folhas e o número de maços, foi utilizada a distribuição de erro de Poisson e a sobredispersão foi corrigida com quasipoisson. A distribuição de erro de Gaussian foi utilizada para verificar a influência dos tratamentos sobre a massa fresca, a massa seca, a produção comercial e os comprimentos médios das folhas. A significância dos modelos completos foi testada e os termos não significativos retirados do modelo. Também foi realizada análise de resíduos dos modelos mínimos, para verificar a adequação dos mesmos. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade,

com auxílio do pacote “agricolae”. Foram considerados estatisticamente significativos valores de $p \leq 0,05$ (Crawley, 2007).

3. Resultados

3.1. Identificação do patógeno

Para a identificação de *P. Destructor*, utilizaram-se as características morfológicas das estruturas dos esporangióforos e dos esporângios em microscópio ótico e em Microscópio Eletrônico de Varredura-MEV (**Figuras 1A, B, C e D**). Na área experimental, foram observados nas folhas da cebolinha sintomas típicos de míldio causados por *P. destructor*. Os principais sintomas foram lesões foliares, com crescimento micelial de cor cinza e amarelecimento das folhas mais velhas (**Figuras 1 E, F e G**), redução do crescimento da planta e necrose foliar. A identificação molecular, ao analisar a sequência do gene ITS do isolado 16208 proveniente de cebolinha (**Figura 2**), apresentou 100% de similaridade com sequências da mesma região da espécie *P. destructor* depositadas no banco de dados nucleotídeos – GenBank (NCBI).

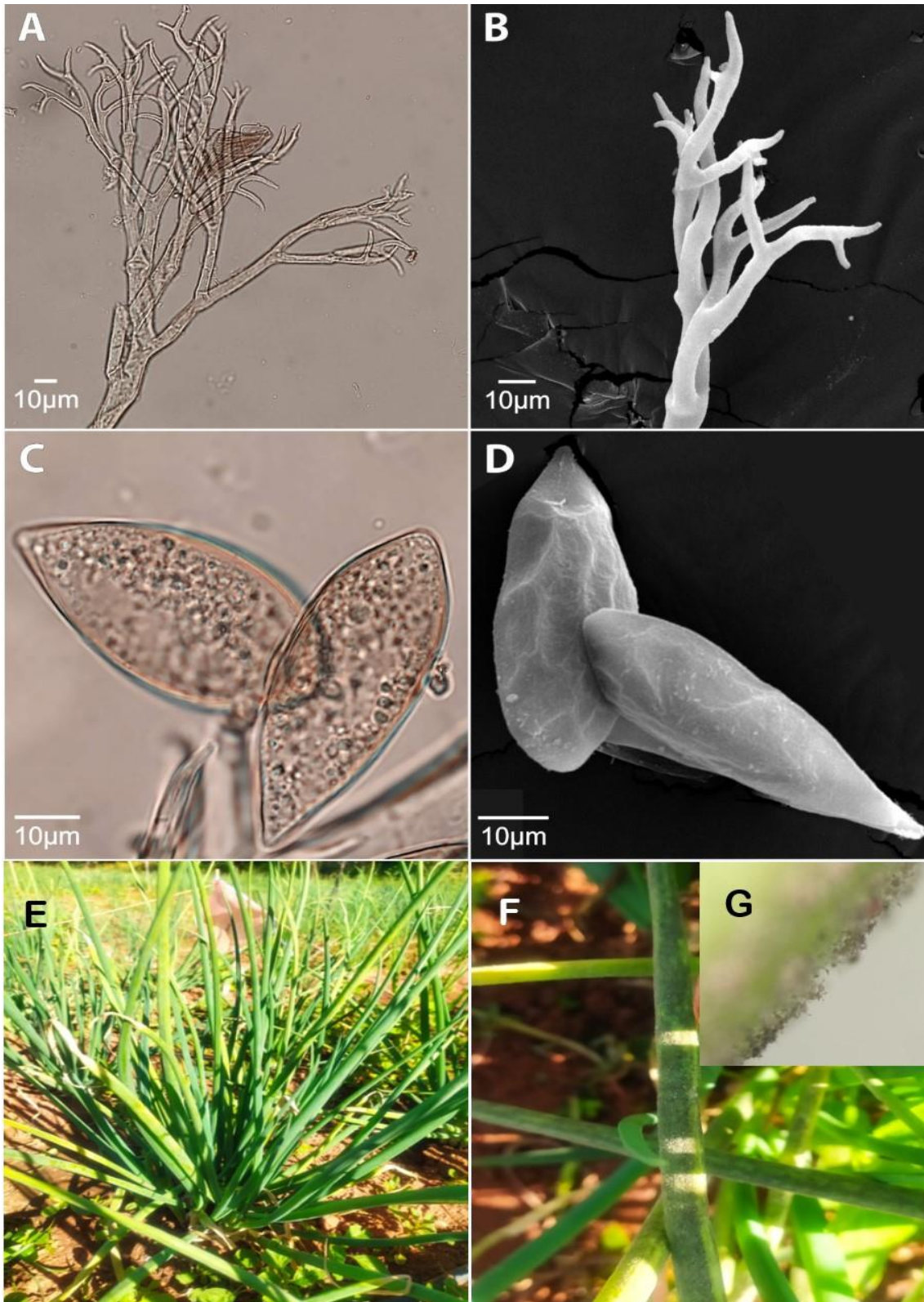


Figura 1. Esporangióforos e esporângios de *Peronospora destructor* em microscopia ótica (A, C) e em MEV (B, D). Sintomas típicos observados em cebolinha, com amarelecimento das folhas velhas (E), micélio de cor cinza em folhas (F) e esporangióforos e esporângios observados em microscópio estereoscópico no aumento de 10X (G).

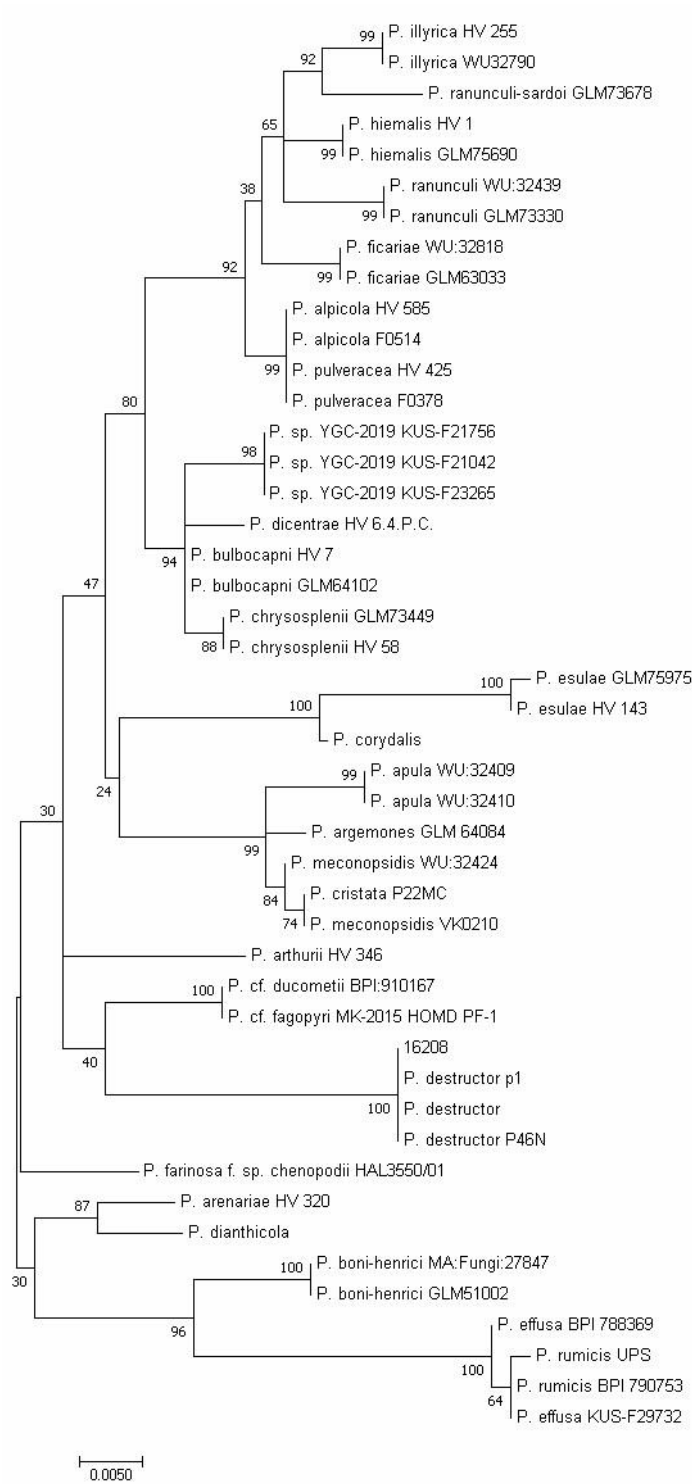


Figura 2. Árvore filogenética demonstrando as relações evolutivas entre as sequências do gene ITS do isolado 16208 e sequências de isolados relacionados presentes na base de dados de nucleotídeos – GenBank, utilizando 1000 repetições.

3.2. Controle *in vivo*

3.2.1 Incidência e severidade em campo

A incidência da doença nas parcelas no início das avaliações, nos tratamentos fungicida (hidróxido de cobre) 5 mL.L⁻¹ (controle 2) sem aplicação do produto (controle 1), CC 0,50, CC 0,25, CC 0,125 e CC 0,75 mL.L⁻¹, no início das avaliações (0 dia), foi de 77, 92, 92, 98, 100 e 100%, respectivamente (**Figura 3A**). Com exceção do tratamento com fungicida, todos os tratamentos apresentaram 100% de incidência a partir da segunda avaliação (8 dias), até a última avaliação (40 dias). A partir da terceira avaliação (16 dias), o tratamento fungicida promoveu uma redução na incidência, chegando a reduzir em 40% a incidência na sexta avaliação (40 dias), em relação aos demais tratamentos. Já a doença na testemunha sem aplicação do produto (controle 1) apresentou maior severidade em todas as avaliações, atingindo maior severidade (nota 6) aos 16 dias, com queda decrescente até aos 40 dias (**Figura 3B**). Os tratamentos com fungicida (controle 2) e CC 0,25, 0,50 e 0,75 mL.L⁻¹ reduziram a severidade da doença na cebolinha. Porém, maiores reduções na severidade ocorreram com a maior concentração de CC 0,75 mL.L⁻¹ e com o fungicida hidróxido de cobre 5 mL.L⁻¹ (controle 2). No pico de maior severidade da doença, o tratamento CC 0,75 mL.L⁻¹ reduziu a severidade da doença em aproximadamente 45% em relação à testemunha sem aplicação do produto (controle 1).

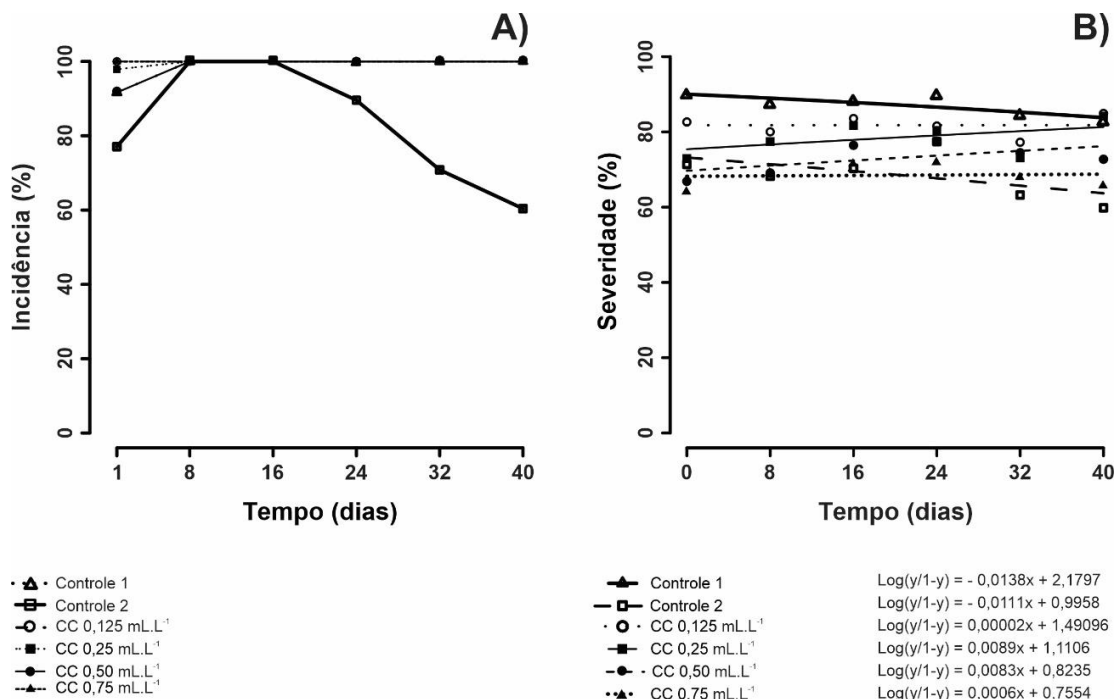


Figura 3. Incidência (A) e severidade (B) de *P. destructor* em cebolinha sem aplicação de produto (Controle 1) ou com aplicação do fungicida hidróxido de cobre 5 mL.L⁻¹ (Controle 2)

ou fertilizante foliar CC em diferentes concentrações (0,125; 0,25; 0,50 e 0,75 mL.L⁻¹).

3.2.2 Desenvolvimento vegetativo e produção da cebolinha em campo

Para a análise de variância em relação ao número de folhas, houve diferença significativa entre os tratamentos (**Tabela 1**), com maior quantidade de número de folhas sadias no tratamento com fungicida (controle 2), seguidos em ordem decrescente pelos tratamentos CC 0,75, CC 0,50, CC 0,25 e CC 0,125 mL.L⁻¹, sendo o tratamento sem aplicação do produto testemunha (controle 1) com menor número de folhas sadias nas plantas da cebolinha. Já para o comprimento médio das folhas, também houve diferença significativa entre os tratamentos (**Tabela 1**), sendo que os tratamentos com fungicida e maior concentração do CC 0,75 mL.L⁻¹ apresentaram resultados semelhantes, com maiores valores de comprimento médio das folhas em relação aos demais tratamentos. O tratamento sem aplicação do produto (controle 1) ficou com menor comprimento médio das folhas. A produção de massa fresca e seca de folhas de cebolinha/m² apresentou comportamento similar com relação aos tratamentos (**Tabela 1**) com maiores produções no tratamento com fungicida (controle 2), seguidos pelos tratamentos CC 0,50 e 0,75 mL.L⁻¹. Já a produção expressa pelo número de maço/m² foi significativamente maior nos tratamentos fungicida (controle 2), CC 0,75 e CC 0,50 mL.L⁻¹, em comparação com a testemunha (controle 1) sem aplicação de produto (**Tabela 1**). No entanto, a produção comercial/m² foi significativamente maior apenas nos tratamentos com fungicida (controle 2), e CC 0,75 mL.L⁻¹, com uma diferença de 40% na produção comercial entre os tratamentos CC 0,75 mL.L⁻¹ e a testemunha (controle 1). Já os demais tratamentos (CC 0,125; 0,25; 0,50 mL.L⁻¹) não diferiram significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5%, mas apresentaram aumento na produção (**Tabela 1**). Pela análise de variância, não houve diferença significativa entre os tratamentos quanto ao teor de N foliar na cebolinha. No entanto, o teor de cobre apresentou diferença significativa entre os tratamentos, com maior concentração no limbo foliar da cebolinha tratada com fungicida hidróxido de cobre (controle 2), em comparação com tratamento (controle 1) sem aplicação do produto, e os demais tratamentos CC nas diferentes concentrações não diferiram entre si pelo teste de tukey a 5% de significância (**Tabela 1**).

Tabela 1

Valores médios de número de folhas por planta (N.º FP), comprimento médio das folhas (CMF)_(cm), número de maçãs/m²(N.º M/m²), produção de massa fresca (MF) e seca (MS) total de folhas/m², produção comercial/m² (PC/m²), cobre (Cu) e nitrogênio (N) em cebolinha após aplicação de fertilizante foliar Copper Crop (CC) em diferentes concentrações, fungicida hidróxido de cobre 5 mL.L⁻¹ (Controle 2) e sem aplicação de produto (Controle 1).

Tratamentos	N.º FP	CMF _(cm)	N.º M/m ²	MF(g)	MS(g)	PC/m ²	Cu	N
Controle 1	11.9±2.6 f	42.3±6.0 e	13.2±3.5 d	72.9±36.6 c	14.2±1.3 c	385.2±119.4 b	15.8± 3.4 b	35.5±1.0
Controle 2	17.5±4.3 a	47.2±5.9 a	27.2±2.7 a	154.7±27.3 a	18.7±1.2 a	702±56.9 a	161.3± 89.8 a	39.0± 2.4
CC 0.125 mL.L ⁻¹	13.2±2.8 e	43.5±5.8 d	17.7±2.5 cd	93.7±16.2 bc	13.7±1.1 bc	569± 126.8 ab	34.1±13.7 b	34.2±3.1
CC 0.25 mL.L ⁻¹	14.4±3.0 d	44.8±5.7 c	19.2±2.6 bcd	105.0±15.4 bc	15.5±0.7ab	586.5±120.0 ab	60± 27.4 b	38.4±3.8
CC 0.50 mL.L ⁻¹	15.5±3.2 c	46.2±5.9 b	21.5±2.6 abc	120.7±5.8 abc	17.0±0.4 ab	610.5±114.6 ab	40.5± 16.7 b	39.9± 4.5
CC 0.75 mL.L ⁻¹	16.7±3.9 b	47.2±6.0 a	24.5± 2.6 ab	134.5 ±13.7 ab	17.7±0.9 a	642± 105.5 a	51.3± 15.1 b	39.8± 5.8
CV%	5.88	0.29	13.67	19.08	6.06	18.84	65.81	10,01

As médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3.3. Controle químico *in vitro*

Ao analisar o efeito do fator fungicida (hidróxido de cobre) na concentração utilizada de 5,0 mL.L⁻¹, em relação ao fertilizante foliar CC avaliado, houve diferença entre os tratamentos (experimento I). Verificou-se que a aplicação do fungicida foi mais eficiente no controle *P. destructor*, proporcionando a inibição de 100% do crescimento micelial. Já para as concentrações utilizadas (CC 0,125 mL.L⁻¹, CC 0,25 mL.L⁻¹, CC 0,50 mL.L⁻¹, CC 0,75 mL.L⁻¹) do fertilizante, foi menor o efeito da porcentagem de inibição do crescimento micelial em relação ao fungicida. Houve diferença também entre as concentrações avaliadas do CC 0,75 mL.L⁻¹, uma vez que o isolado *P. destructor* foi mais sensível na concentração 0,75 mL.L⁻¹ com maior controle em relação às demais, com aproximadamente 35% de controle. Seguindo em ordem decrescente de controle CC 0,50 mL.L⁻¹, 27%; CC 0,25 mL.L⁻¹, 25%; CC 0,125 mL.L⁻¹, 20% (analisando-se o último dia de avaliação), o isolado foi menos sensível (**Figura 4A**). Em relação aos dias de avaliações, o fungicida hidróxido de cobre permaneceu constante durante os 14 dias avaliados, enquanto o CC, em todas as concentrações avaliadas, apresentou decréscimo na porcentagem de inibição do crescimento micelial ao passar dos dias. No primeiro dia de avaliação, as concentrações foram de aproximadamente CC 0,75 mL.L⁻¹, 50%; CC 0,50 mL.L⁻¹, 40%; CC 0,25 mL.L⁻¹, 35%; CC 0,125 mL.L⁻¹, 23% de controle. No último dia de avaliação, foram de 0,75 mL.L⁻¹, 35%; CC 0,50 mL.L⁻¹, 27%; CC 0,25 mL.L⁻¹, 25%, CC 0,125 mL.L⁻¹, 20% de controle (**Figura 4A**). Isso pode ser explicado pelo fato de que o produto não obteve um controle 100% de inibição devido às baixas concentrações utilizadas. O micélio fúngico se desenvolveu, mesmo que com lento desenvolvimento. Porém, com o passar dos dias, o efeito do produto foi diminuindo, assim como seu efeito inibitório. Essa diferença da sensibilidade do isolado de *P. destructor* em relação aos produtos avaliados pode estar relacionada ao micronutriente, o cobre, que está presente na composição tanto do fungicida hidróxido de cobre quanto do fertilizante CC, porém em menor quantidade. No experimento 2 *in vitro*, todas as concentrações utilizadas apresentaram 100% na inibição do crescimento micelial, exceto a concentração de 1,0 mL.L⁻¹, em que o isolado foi menos sensível. Em relação aos 16 dias de avaliações, somente a CC 1,0 mL.L⁻¹ apresentou um decréscimo nos primeiros dias, com 75% de controle; ao último dia, chegando a 40% de controle. As demais concentrações permaneceram constantes, sem perder o efeito inibitório do produto sobre o micélio fúngico (**Figura 4B**).

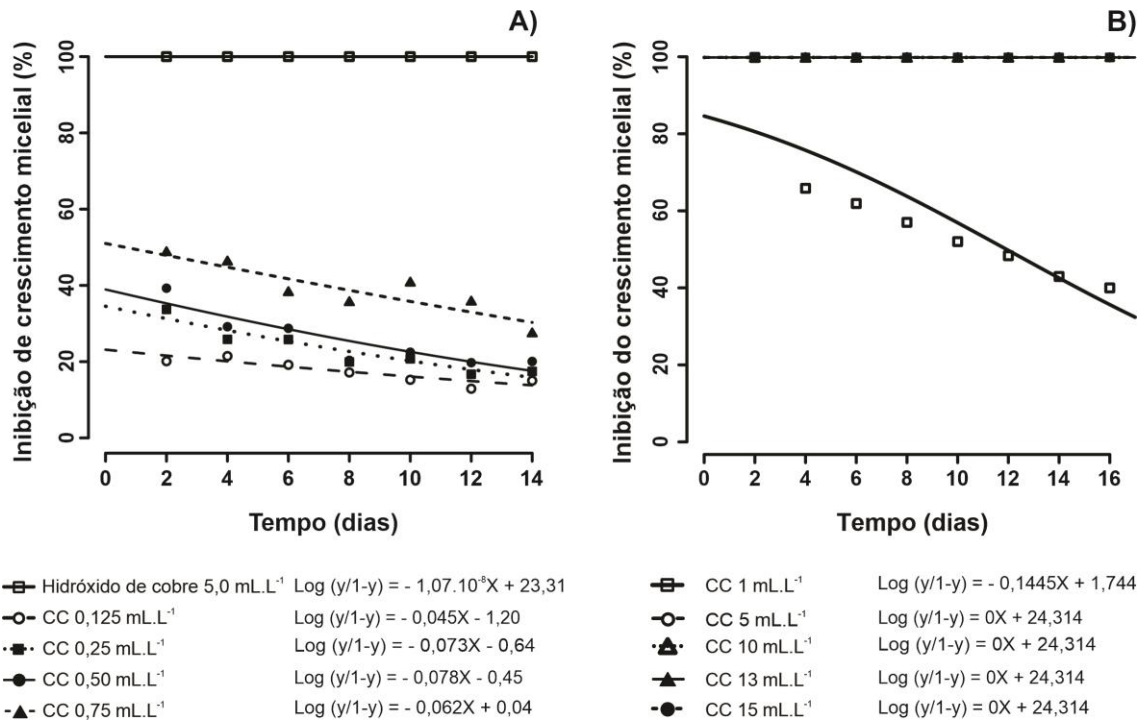


Figura 4. Controle *in vitro* experimento 1 (A) e experimento 2 (B) ação do fungicida hidróxido de cobre (testemunha) e de diferentes concentrações de CC na inibição do crescimento micelial de *P. destructor* da cebolinha.

4. Discussão

4.1. Identificação do patógeno

Para a identificação morfológica, as principais características típicas do fungo *P. destructor* observadas foram micélio cenocítico e hialino medindo entre 3,6 a 6,9 μm de largura, com esporângios hialinos em forma de limão, piriforme a fusiforme, com medidas entre 50,4 – 70,7 x 20,4 – 35,9 μm , produzidos em esporangióforos dicotomicamente ramificados com tamanhos variados e determinados com ângulos agudos de ramos terciários (Odhambo, 1986; Langston & Sumner, 2000; Göker et al., 2007). Na análise molecular e/ou análise filogenética, o isolado agrupou-se com as sequências de referências depositadas no GenBank mais similares à espécie *P. destructor* descrita por Thines *et al.* (2020).

4.2. Controle *in vivo*

4.2.1 Incidência e severidade em campo

Os 40 dias de avaliações (junho a julho) foram considerados um dos períodos mais frios do ano na região, com temperatura média de 22 °C e com umidade relativa do ar de 62,50 %, de acordo com os dados do Instituto Nacional de Meteorologia-INMET 2021, da estação mais próxima da área de plantio, a aproximadamente 25 km (**Figura 5**). Entretanto, no local de plantio, devido a intensa irrigação exigida pela cultura, acredita-se que a umidade relativa do ar esteja bem mais alta do que o exposto de acordo com os dados do INMET. Isso pode ter contribuído para o aumento da doença em campo, havendo assim alta na incidência e severidade da doença, uma vez que o agente causal do míldio, o *P. destructor*, em condições ideais como temperatura igual ou inferior a 22 °C e alta umidade relativa do ar, prolifera mais rápido. Marcuzzo; Duffeck (2016) estudaram a influência da temperatura e da duração do molhamento foliar na severidade de *P. destructor* em cebola e demonstraram que a doença foi mais severa na temperatura entre 10 e 15 °C, quando o período de molhamento foliar ultrapassou 10 horas. Os mesmos autores também verificaram que a 25 °C houve aparecimento de sintomas, mesmo após 40 horas de molhamento foliar. Ao analisar os tratamentos, tanto o fungicida hidróxido de cobre (controle 2) quanto as diferentes concentrações do CC mostraram efeito positivo no controle em relação à testemunha sem aplicação de produto (controle 1), na severidade da doença em campo. Romanazzi *et al.* (2021) estudaram a eficiência de hidróxido de cobre e quitosana no controle de *Plasmopara viticola* em videira e verificaram que a formulação de quitosana a 0,5 e 0,8%, sozinha e com o hidróxido de cobre, proporcionou boa proteção contra *P. viticola* durante as estações da doença de alta e baixa pressão. Fonseca *et al.* (2019) avaliaram concentrações de cobre no controle de *Phyllosticta citricarpa* e concluíram que aplicações em intervalos de catorze dias de oxiclreto de cobre a 31 e 24,5 mg/m³ em copa foram eficientes na redução da incidência e severidade da doença. Em outro estudo, Franco *et al.* (2020) verificaram a eficácia de três fontes e três concentrações de fungicidas cúpricos (hidróxido de cobre, oxiclreto de cobre, óxido cuproso) no controle de *P. citricarpa* em frutos de laranjeira ‘Pera’ inoculados ou sob infecção natural, e demonstraram que o hidróxido de cobre propiciou maior redução na incidência e severidade da doença, com menor dosagem de cobre metálico (43,7 g de Cu⁺⁺100L⁻¹).

De acordo com os resultados obtidos no presente estudo para o controle de *P. Destructor*, a eficácia do fertilizante foliar CC na redução da severidade da doença pode ser explicada pela presença do cobre bioativo (10%) presente na composição do fertilizante foliar CC, agindo como efeito fungistático e ou fungicida sobre o fungo, conforme observado nos

experimentos *in vitro*. No entanto, como as condições de temperatura e umidade foram ideais para o progresso da doença e com carga de inóculo constante, houve menor redução na incidência da doença.

4.2.2 Desenvolvimento vegetativo e produção da cebolinha em campo

O tratamento sem aplicação do produto (controle 1), tanto nas avaliações do desempenho vegetativo quanto na produção, foi relativamente menor em comparação aos demais tratamentos de todas as variáveis avaliadas. Isso pode ser explicado pelo fato de esse tratamento não receber nenhum controle, havendo maior severidade da doença em campo, e conseqüentemente redução da taxa fotossintética da planta interferindo no seu crescimento e desenvolvimento, pois a planta deixa de receber nutrientes essenciais, impactando diretamente na produção (Cerqueira *et al.* (2017), Dalio *et al.* (2014), Gonçalves *et al.* (2016) e Marcuzzo *et al.* (2020) relatam que os fungos reduzem a fotossíntese da planta, levando à redução do crescimento e da produção). Já para os tratamentos com aplicações de produto à base de cobre, tanto do fungicida hidróxido de cobre na concentração 5 mL.L⁻¹ (controle 2) quanto das diferentes dosagens do fertilizante foliar CC, que também possui cobre em sua composição (10% de cobre bioativo), foram significativamente superiores, bem como na maior concentração CC 0,75 mL.L⁻¹ obteve-se maior controle entre as demais concentrações (**Tabela 1**), em relação a testemunha sem aplicação do produto (controle 1). Isso pode ser explicado pelo fato de que produtos à base de cobre têm controle sobre o fungo, por agirem como protetores, uma vez que o fungo *P. destructor* está presente na parte aérea da planta (Marcuzzo *et al.*, 2020). As classes de fungicidas protetores agem como camada fina protetora na planta, fazendo com que as folhas ainda não contaminadas fiquem protegidas do fungo. Os fungicidas protetores, por exemplo, o Maneb, o oxiclóreto de cobre e o sulfato de cobre (Zambolim *et al.*, 2016; Govers *et al.*, 2017), inibem a germinação dos esporos e tubo germinativo dos fungos na superfície dos tecidos da planta (Garcia, 1999; Govers *et al.*, 2017), penetram no interior dos microorganismos, provocando reações químicas não específicas, com grupamentos sulfidrílicos (SH), amino (NH₂), Hidroxilícos (OH) presentes nas proteínas, com ácido nucleicos e seus precursores, em várias rotas metabólicas.

Chen *et al.* (2022) avaliaram nanopartículas de óxido de cobre (NPsCuO) no controle de *Phytophthora nicotianae* na cultura do tabaco e verificaram que a concentração de 100 mg.L⁻¹ de NPsCuO interferiu no processo de crescimento e reprodução do fungo, reprimindo

o crescimento de hifas, germinação de esporos e produção de esporângios. Tal eficácia de controle foi observada pelos autores, tanto *in vitro* como em casa vegetação. Ribeiro *et al.* (2017), em trabalhos com o acetato de cobre para o controle *in vitro* de *Pythium insidiosum*, obtiveram resultados de efeito inibitório do crescimento micelial na concentração de 4–64 µg/ml. Govers *et al.*(2017), em estudos que avaliaram o controle de *Phytophthora* com tratamento de sulfato de cobre, observaram que o produto reduziu com sucesso a infecção em até 86% e o tratamento com sulfato de cobre 0,2 ppm foi tão bem sucedido quanto o tratamento de 2,0 ppm. Giannousi *et al.* (2013) testaram o controle de *Phytophthora infestans* com nanopartículas de cobre e relataram sobre a eficácia de 69,61% dos produtos à base de cobre como efeito positivo no controle da doença. Ainda segundo os autores, as NPs à base de cobre diminuem a porcentagem de infecção em comparação com as parcelas não tratadas e se mostram mais eficazes contra *P. infestans* do que todos os produtos de referência testados. Zambolim (2016) avaliou o controle de *Hemileia vastatrix* no cafeeiro, com mistura de calda bordalesa com a composição de 750g de sulfato de cobre e verificou que houve controle da doença em 75% devido à composição com adição de sulfato de cobre. Em outro estudo, Carmona *et al.* (2018) avaliaram o fertilizante foliar fosfito de cobre em combinação com o fungicida estrobilurina-triazol no controle de *Septoria glycines* e *Cercospora kikuchii* e relataram um aumento da eficácia do fungicida quando associado ao fertilizante. Marcuzzo *et al.* (2016) ressaltam que métodos de controles alternativos, com o uso de produtos à base de cobre para o manejo do míldio em cebola, têm sido cada vez mais utilizados em sistema orgânico de cultivo.

Para análise de cobre e nitrogênio, não houve diferença entre os tratamentos para o nitrogênio. Isso pode ser explicado pela pouca concentração do nutriente presente na composição do produto CC (N-4,09%) e/ou pela baixa concentração do produto usado no experimento e nenhuma presença do nutriente na composição do fungicida, o que explica a pouca absorção no limbo foliar. Já a análise de cobre foi superior no tratamento com fungicida hidróxido de cobre (controle 2) em relação aos demais tratamentos, o que pode ser explicado por uma concentração maior do nutriente cobre no produto (Cu-35%) e/ou maior concentração do produto utilizado no experimento (5 mL.L⁻¹). Obteve-se uma absorção maior e/ou o produto foi melhor absorvido pelo limbo foliar da planta. Entretanto, o fertilizante foliar CC, mesmo com pouca absorção do cobre no limbo foliar, demonstrou efeito fungicida sobre o fungo, perante resultados obtidos no presente estudo em campo, permitindo o controle da doença e fornecendo nutrição para as plantas, melhorando a qualidade da cebolinha e

mantendo as folhas com aspecto verde-escuro, como observado durante as avaliações em campo, fortalecendo assim o metabolismo das plantas e protegendo-as do fungo. De acordo com Taiz & Zeiger (2013), Sathiyabama & Manikandan (2018) e Shang *et al.* (2020), fertilizantes foliares têm sido usados para fornecer micronutrientes essenciais para as vias metabólicas necessárias para reforçar as barreiras de resistência contra patógenos de plantas, como camada de cutícula e a parede celular, além de atuarem como co-fatores de diversas enzimas envolvidas nas respostas de defesa, conteúdo de clorofila e fotossíntese.

De acordo com os relatos de vários trabalhos com produtos à base de cobre, e os resultados obtidos no presente estudo com o fertilizante foliar o CC que também possui cobre na sua composição, acredita-se ter ação fungicida para o patógeno *P. destructor*. Possibilitando assim, a redução da reprodução do fungo, e permitindo o controle da doença em campo. Pode-se levar em consideração também a ação nutricional do produto nas plantas, melhorando a qualidade da cebolinha, e a produção de modo geral. O uso de produtos à base de cobre como controle alternativo de doenças, pode reduzir o uso de fungicidas, podendo ser mais viável o custo de aquisição desses produtos.

4.3. Controle químico *in vitro*

De acordo com os resultados dos experimentos *in vitro*, observou-se que, com o aumento das concentrações do produto CC, houve aumento na mesma proporção na inibição do crescimento micelial de *P. destructor*. Santos *et al.* (2018) avaliaram a eficácia de fosfitos de cobre, um fertilizante foliar, no controle *in vitro* de *Pythium* sp. e observaram nos resultados obtidos a inibição do crescimento micelial do fungo. Ainda segundo os autores, houve um efeito fungicida significativo entre as concentrações dos produtos e o crescimento micelial, sendo que, com o aumento das concentrações, ocorreu uma redução do crescimento micelial do *Pythium* sp. e na maior concentração de 0,006% ocorreu uma ação fungicida sobre o fungo. Benfradj *et al.* (2016) investigaram a eficácia de alguns bioagentes e fungicidas e, entre os fungicidas avaliados, foram testados o hidróxido de cobre nas doses 150g/L e metal de cobre 1,5 kg/ha no controle *in vitro* de *Phytophthora*, *Phytopythium* e espécies de *Pythium*, agentes causais da gomose dos citrus. Esses autores observaram inibição do crescimento micelial fúngico de 100% para todos os oomicetos avaliados com o fungicida à base de cobre. Vanti *et al.* (2020) estudaram o controle *in vitro* de *P. aphanidermatum* com a utilização de nanopartículas de quitosana-cobre e verificaram a eficácia do produto à base

de cobre, controlando até 98% do crescimento micelial fúngico.

Em outros trabalhos com fertilizante foliar e/ou produtos à base de cobre, Fagundes-Nacarath *et al* (2018) avaliaram o controle *in vitro* de *Sclerotinia sclerotiorum* – doença do feijoeiro – com a utilização de fosfitos à base de cobre e observaram inibição do crescimento micelial em 100% na maior concentração de $0,090 \text{ mol.L}^{-1}$ de fosfito de cobre. Ainda segundo os mesmos autores, o uso do fertilizante à base de cobre tem efeito positivo no controle do fungo e pode ser uma alternativa de manejo. Kanhed *et al.* (2014) avaliaram a eficácia antifúngica *in vitro* de NpsCuO (20 $\mu\text{g}/\text{disco}$) contra *F. oxysporum*, *Curvularia lunata*, *Alternaria alternata* e *Phoma destructiva* e relataram que NPsCuO mostraram atividade antifúngica significativa contra os fungos fitopatogênicos. Os autores concluíram que os NPsCuO podem ser usados para o controle de fungos patogênicos na agricultura.

Com base nos resultados obtidos no presente estudo do controle *in vitro* de *P. Destructor* e como demonstrados em outros trabalhos com fungos submetidos ao controle com produtos à base de cobre, as concentrações de cobre presente no resulta no melhor controle do crescimento micelial, uma vez que o produto à base de cobre tem efeito inibitório positivo contra o agente causal da doença do míldio o *P. destructor*. Sendo assim, torna-se desnecessária a utilização de concentrações superiores a $5,0 \text{ mL.L}^{-1}$ do fertilizante CC, apresentando esta concentração 100% de controle no teste *in vitro*, evitando-se assim maiores custos com a aquisição do produto.

Para o agricultor que visa ao aumento da qualidade e da quantidade da produção de cebolinha em pequenas áreas de cultivo, o produto CC demonstrou ser eficiente no controle do míldio do agente causal *P.destructor*, nas características avaliadas em campo e em laboratório, sendo mais vantajoso em questões de qualidade e sanidade do produto final para comercialização, principalmente para as culturas de ciclo curto, como a cebolinha. No entanto, estudos futuros em condições de campo são necessários para confirmação dos testes de controle químico *in vitro* para maiores concentrações (experimento 2, **Figura 4B**) do produto CC.

5. Conclusão

- O agente causal do míldio na cebolinha é *Peronospora destructor*.
- O fertilizante foliar CC reduziu a incidência e a severidade da doença.
- A aplicação do fertilizante foliar CC promove maior desenvolvimento vegetativo e

produção da cebolinha e possui baixa retenção ou absorção do cobre no tecido foliar.

- O fertilizante foliar CC inibi o crescimento micelial de *P. destructor in vitro* em todas as concentrações estudadas, com o aumento das concentrações ocorre maior inibição micelial.

Referências

- Adaskaveg, J.E.; Hao, W.; Förster, H. (2015). Postharvest strategies for managing *Phytophthora* brown rot of citrus using potassium phosphitein combination with heat treatments. **Plant Dis.**, v. 99, p. 1477-1482.
- Ankita, C.S.; Sharma, R.; Meena, K.V. (2020). Epidemiological studies of downy mildew of onion. **Jornal Internacional de Microbiologia Atual e Ciências Aplicadas**, v. 9, n. 1, p. 2.
- Barroso, P.B. (2016). Resposta da cultura do repolho à aplicação de defensivos agrícolas e fertilizantes foliares. 28 f. Dissertação, Instituto Federal Goiano- Campus Morrinhos.
- Benfradj, N.; Tounsi, S.; Hamdi, N.B.M. (2016). *In-vitro* evaluation of antagonists and fungicides in controlling citrus gummosis caused by *Phytophthora*, *Phytopythium* and *Pythium* species in Tunisia. **British Microbiology Research Journal**. Science Domain international. v.16, n.1, p. 1-14.
- Carmona, M.A.; Sautua, F.J.; Hernandez, O.P. (2019). Copper phosphite enhances efficacy of a strobilurin-triazole fungicide in controlling late season foliar diseases of soybean. **Crop Protection**, v.115, p.130-134.
- Carvalho, L.F.; Santos, G.M.; Campos, C.M.F. (2019). Qualidade microbiológica da cebolinha (*Allium schoenoprasum*.) produzida em hortas comunitárias de Teresina-PI. **Archives of Health Investigation**, v. 8, n. 6, p. 278-281.
- Chen, J.; Wu, L.T.; Zhu, Y.S.; Ding, W. (2022). Nonphytotoxic copper oxide nanoparticles are powerful “nanoweapons” that trigger resistance in tobacco against the soil-borne fungal pathogen *Phytophthora nicotianae*. **Journal of Integrative Agriculture**.
- Constantinescu, O. (1991). Na annotated listo f *Peronosporan*ames. *Thunbergia*, v.15, p.1-110.
- Dalio, R.J.D.; Fleischmann, F.; Humez, M.; Osswald, W. (2014). Phosphite protects fagus sylvaticaseedlings towards *Phytophthora plurivioravia* local toxicity, priming, and facilitation of pathogen recognition. *PLoS One*. v. 9, p. 87-860.
- Edgington, L.V.; Khew, K.L.; Barron, G. L. (1971). Fungitoxic spectrum of benzimidazoles compounds, **Phytopathology, Saint Paul**, v. 61, p. 42-44.
- Fagundes-Nacarath, I.R.F.; Debona, D.; Brás, V.V.; Silveira, P.R.; Rodrigues, F.A. (2018). Phosphites attenuate *Sclerotinia sclerotiorum*-induced physiological impairments in common

bean. **Acta Physiologiae Plantarum**, v.40, p.198.

Fonseca, A. E.; Goes, A.; Pereira, F. D. (2019). Copper oxychloride applied alone to control citrus black spot. **Rev. Caatinga**, Mossoró, v. 32, n. 3, p. 616-624.

Franco, D.; Goes, A.; Pereira, F.D (2020). Sources and concentrations of cupric fungicides for the control of citrus black spot. **Rev. Caatinga**, Mossoró, v. 33, n. 1, p. 01 – 08.

Fujiwara, K.; Inoue, H.; Sonoda, R.; Iwamoto, Y.; Kusaba, M.; Tashiro, N.; Miyasaka, A (2021). Real-time PCR detection of the onion downy mildew pathogen *Peronospora destructor* from symptomless onion seedlings and soils. **The American Phytopathological Society. Plant Disease**, v.105, p.643-649.

Garcia, A (1999). Fungicidas I: Utilização no controle químico de doenças e sua ação contra os fitopatógenos. Embrapa Rondônia, Porto Velho – RO, 8-23 p (Documentos / Embrapa; Rondônia, 46).

Giannousi, K.; Avramidis, I.; Dendrinou, S.C. (2013). Synthesis, characterization and evaluation of copper based nanoparticles as agrochemicals against *Phytophthora infestans*. **RSC Advances**, v.3, p.21743-21752.

Gonçalves, P.A.S.; Boff, P.; Araújo, E.R (2016). Altas diluições de *Solanum lycopersicum* e *Camellia sinensis* no manejo fitossanitário e rendimento de cebola em sistema orgânico. **Revista de homeopatia**, v.79, n.3, p.1-10.

Govers, L.L.; Zee, E.M.V.; Meffert, J.P.; Rijswick, P.C.J.; Veld, W.A.M.; Heusinkved, J.H.T.; Heide, T.V. (2017). Copper treatment during storage reduces *Phytophthora* and *Halophytophthora* infection of *Zostera marina* seeds used for restoration. **Scientific Reports**, v.7, p. 43172.

Hoffmann, S.G. (2019). Fertilizantes foliares associados à fungicida no controle in vitro de *Colletotrichum truncatum* e *Corynespora cassicola*. Universidade Federal de Mato Grosso, campus de Sinop, Instituto de Ciências Agrárias e Ambientais.

Kanhed, P.; Birla, S.; Gaikwad, S.; Gade, A.; Seabra, A.B.; Rubilar, O.; Duran, N.; Rai, M (2014). *In vitro* antifungal efficacy of copper nanoparticles against selected crop pathogenic fungi. **Materials Letters**, v.115, p.13-17.

Kumar, S.; Stecher, G.; Li, M.; Knyaz, C.; Tamura, K. (2018). Molecular Biology and Evolution, v.35, p.1547-1549.

Langston, D.B.; Sumner, D.R. (2000). First report of downy mildew (caused by *Peronospora destructor*) of onion in Georgia. **Plant Disease**, v.84, p.489-491

Marconatto, L.J.; Koehler, H.S.; Marcuzzo, L.L. (2017). Incidência de doenças em cebola armazenada na região do Alto Vale do Itajaí/SC. **Summa Phytopathologica**, v.43, n.3, p.243-245.

Marcuzzo, L.L.; Menezes Junior, O.G.F.; Gonçalves, S.A.P (2016). Severidade do míldio da cebola em diferentes sistemas de produção. **Summa Phytopathologica**, v.42, n.4, p.366-368.

Marcuzzo, L.L.; Duffeck, M.R (2016). Influência da temperatura e da duração do molhamento foliar na severidade do míldio da cebola. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.42, n.4, p.369-371.

Marcuzzo, L.L.; Harbs, S.C.; Rampelotti, M.A (2020). Viabilidade técnica e econômica de um sistema de previsão para manejo do míldio da cebola. **Summa Phytopathologica**, v.46, n.2, p.129-134.

Mohibullah (1991). Studies on major diseases of bulb vegetables (onion and garlic) in N.F.W.P. Porvince, Pakistan: Final Technical Report (October 1986 to September 1991). Agricultural Research Institute, Tarnab (Peshawar), N.W.P. Pakistan. 55p.

Neri, G.A.; Arci, A.S.; Costa, S.A.; Freitas, F.A.S.; Alcantra, E.; Rezende, R.M (2018). Fertilizante orgânico comercial na redução do crescimento micelial de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* do tomateiro. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, v. 16. n. 3, p.7.

Odhiambo, G.W (1986). Etiology and epidemiology of onion downy mildew caused by *Peronospora destructor* (Berk.) Casp. in Kenya. University of Nairobi. Thesis for master of science, 100 p.

parasites evolve? the multi-gene phylogenetic analysis of downy mildews. **Fungal Genetics and Biology**, v.44, p.105-122.

Ribeiro, T.C.; Weiblen, C.; Botton, S.A.; Pereira, D.I.B.; Jesus, F.P.K.; Verdi, C.M.; Gressler, L.T.; Sangioni, L.A.; Santurio, J.M (2017). *In vitro* susceptibility of the oomycete *Pythium insidiosum* to metallic compounds containing cadmium, lead, copper, manganese or zinc. **Medical Mycology**, v.55, p.6.

R Core Team (2021). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07, URL <https://www.R-project.org/>.

Romanazzi, G.; Mancini, V.; Foglia, R.; Marcolini, D.; Kavari, M.; Piancatelli, S (2021). Use of chitosan and other natural compounds alone or in different strategies with copper hydroxide for control of grapevine downy mildew. American Phytopathological Society Plant. **Plant Disease**, v.105, p.10.

Santana, K.F.A.; Garcia, C.B.; Matos, K.S.; Hanada, R.E.; Silva, G.F.; Sousa, N.R (2016). First report of anthracnose caused by *Colletotrichum spaethianum* on *Allium fistulosum* in Brazil. **Plant Disease**, v.100, n.1, p.224-225.

Santos, S.L.; Campos, T.; Costa, D.N.L.; Mazaro, S.M. (2018). Potencial de produtos à base de fosfitos no controle de *Pythium* sp. em condições *in vitro*. **Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia**, Guarapuava-PR, v.11, n.1, p.105-110.

Sathiyabama, M.; Manikandan, A. (2018). Application of copper-chitosan nanoparticles stimulate growth and induce resistance in finger millet (*Eleusine coracana* Gaertn.) plants against blast disease. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.66, p.1784-1790.

Schumann, I.S. (2018). Controle da podridão negra do repolho com o uso de fertilizante foliar à base de cobre. Dissertação-Instituto Federal Goiano- Campus Morrinhos.

Shang, H.P.; Ma, C.X.; Li, C.Y.; White, J.C.; Polubesova, T.; Chefetz, B.; Xing, B.S (2020). Copper sulfide nanoparticles suppress *Gibberella fujikuroi* infection in rice (*Oryza sativa* L.) by multiple mechanisms: contact-mortality, nutritional modulation and phytohormone regulation. **Environmental Science-Nano**, v.7, p.2632-2643.

Silva Júnior, M.B.; Pozza, E.A.; Resende, M.L.V.; Ribeiro Júnior, P.M.; Costa, B.H.G.; Carvalho, C.A.; Resende, A.R.M.; Botelho, D.M.S (2018).Foliar fertilizers for the management of phoma leaf spot on coffee seedlings. **journal of phytopathology**, v. 166, p. 686-693.

Silva, C.F (2009). Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes. 2. ed. **EMBRAPA**.

Silva, I.M.; Ferreira, A.F.T.A.; Almeida, A.S.F.; Bentes, J.L.S (2019).Frações e extratos vegetais no controle da antracnose em cebolinha (*Allium fistulosum* L.).Revista Agrária Acadêmica, **Agrarian Academic Journal**, v.2, n.6, p.5.

Souza, A.G.; Carvalho, J.; AnamI, J.M (2018). Refrigeração e ácido ascórbico na conservação de cebolinha verde minimamente processada. **Agropecuária Catarinense**, v.31, n.2, p.58-62.

Taiz, L., Zeiger, E. (2013). *Fisiologia Vegetal*. 5. ed. (p. 918). Porto Alegre, Brazil: Artmed.

Thines, M.; Buaya, A.; Ali, T.; Brand, T (2020). *Peronospora aquilegiicola* made its way to Germany: the start of a new pandemic? *Mycological Progress*, v.19, p.791-798.

Vanti, G.L.; Masaphy, S.; Kurjogi, M.; Chakrasali, S.; Nargund, V.B (2020). Synthesis and application of chitosan-copper nanoparticles on damping off causing plant pathogenic fungi. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.156, p.1387–1395.

White, T.J.; Bruns, T.D.; Lee, S.B.; Taylor, J.W. (1990). Amplification and Direct Sequencing of Fungal Ribosomal RNA Genes for Phylogenetics. In: Innis MA, DH, Sninsky JJ, White TJ (eds) *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*. Academic Press, Inc., New York, p.315-322.

Zabrieski, Z.; Morrell, E.; Hortin, J. (2015). Pesticidal activity of metal oxide nanoparticles on plant pathogenic isolates of *Pythium*. **Ecotoxicology**, v.24, p.1305–1314.

Zambolim, L. (2016). Current status and management of coffee leaf rust in Brazil. **Tropical Plant Pathology**, v.41, p.1-8.

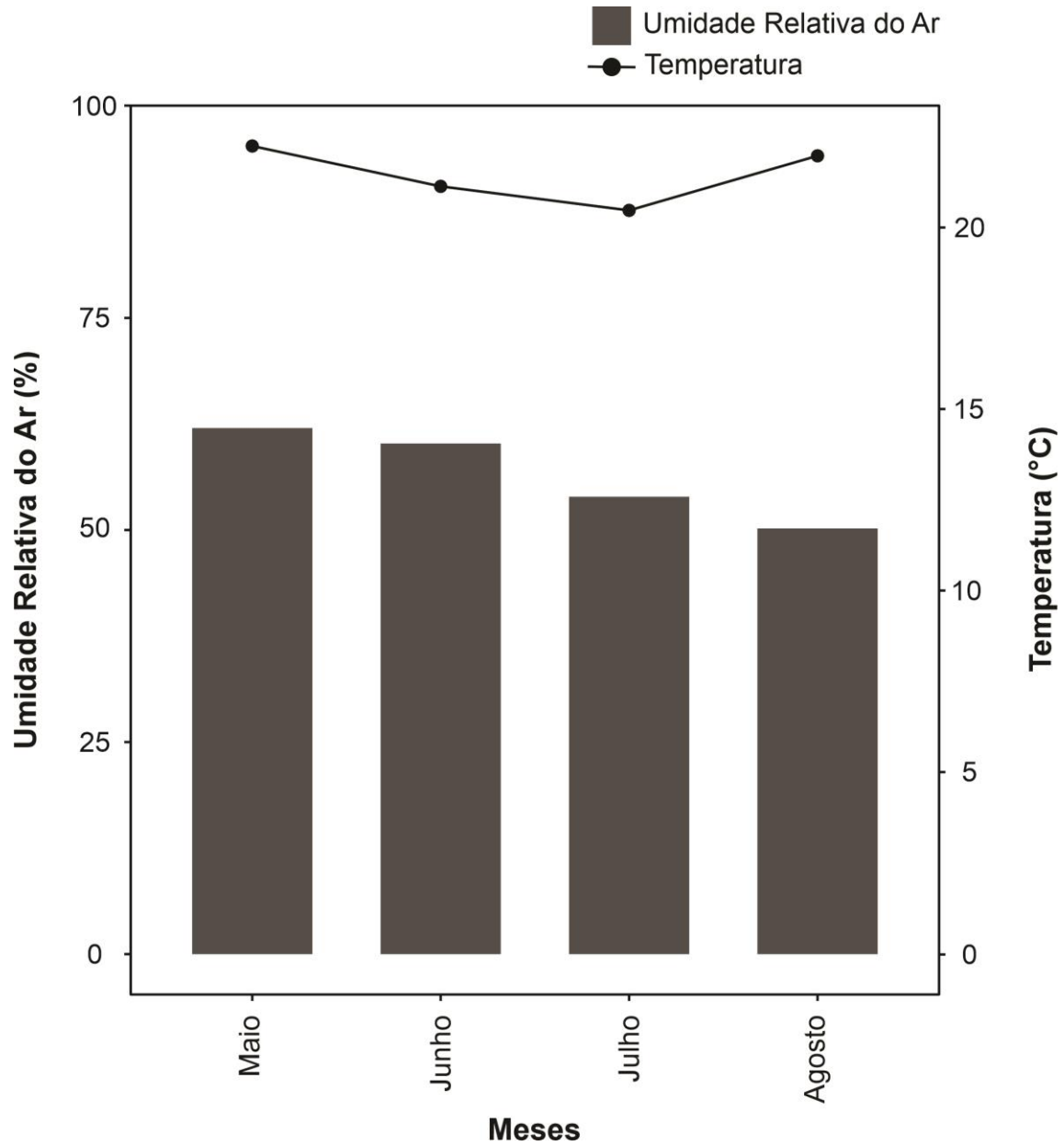


Figura 5. Média mensal da temperatura e da umidade relativa do ar na região durante o experimento *in vivo*.